

TESIS DOCTORAL

MAPA BACTERIOLOGICO DE BACILOS GRAM NEGATIVOS

Juan Alvarez Bravo

DEDICATORIA

A mi Familia

A Piluca



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
FACULTAD DE MEDICINA

CATEDRA DE MICROBIOLOGIA MEDICA
CATEDRATICO: PROF. J. J. PICAZO DE LA GARZA

CIUDAD UNIVERSITARIA
28040 MADRID

D. JUAN J. PICAZO DE LA GARZA, CATEDRATICO DE MICROBIOLOGIA MEDICA Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA I DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE,

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral que presenta D. Juan Alvarez Bravo sobre el tema: *Mapa bacteriológico de bacilos gram negativos* ha sido realizado bajo mi dirección, siendo expresión de la capacidad técnica e interpretativa de su autor, en condiciones tan aventajadas que lo hace acreedor del Título de Doctor, siempre que así lo considere el Tribunal designado.

Madrid, 23 de Enero de 1991

Fdo: Juan J. Picazo de la Garza

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero y profundo agradecimiento al Prof. J.J. Picazo de la Garza. Sin su colaboración y ayuda esta tesis no se hubiera podido realizar. Su gran paciencia conmigo hizo que la elaboración de esta tesis se pudiera llevar a cabo con la ayuda de los más modernos sistemas informáticos. Agradezco notablemente el haber puesto a mi disposición todos los recursos humanos y materiales (que no son pocos) con los que su Departamento cuenta.

Si difícil para mi es expresar mi agradecimiento al Prof. J.J. Picazo, mucho más lo es con el Dr. Romero Vivas. A su lado desde su acogida hacia mi en el Hospital Clínico y posterior elaboración del proyecto y trabajo de esta tesis, no he dejado de aprender constantemente en el campo de la Microbiología. Su enorme optimismo, afecto y gran fe en mi trabajo, que espero no haya sido defraudada, impulsó constantemente mi ánimo de realizarlo. Sin su esfuerzo esta tesis no hubiese sido posible llevarla a su fin.

Sin la ayuda de Irene Santacruz y sobretodo de María Romero, la ardua y laboriosa tarea de preparar las placas para la CMI no hubiera sido posible. Su colaboración fue indispensable en esta tesis.

Agradezco a la Dra. C. Rodriguez Avial, al Dr. Otero y al Prof. Gómez Lus sus comunicaciones verbales en cuanto a los mecanismos plasmídicos de resistencia de estas cepas.

Piluca y Jesús llevaron a cabo la tarea más ingrata ayudándome a anotar las citas bibliográficas.

Por último agradecer a todos aquellos que de alguna manera colaboraron material o intelectualmente en este trabajo.

INDICE

	<u>PAGINA</u>
INTRODUCCION	1
Antecedentes del tema y objetivos	5
Enterobacterias e infección	8
Especies patógenas de enterobacterias:	9
<i>E. coli</i>	
Genero <i>Proteus</i>	
Genero <i>Salmonella</i>	
Genero <i>Klebsiella</i>	
Genero <i>Enterobacter</i>	
Genero <i>Serratia</i>	
Genero <i>Citrobacter</i>	
Bacilos no fermentadores de la glucosa e infección	16
Genero <i>Pseudomonas</i>	
Genero <i>Acinetobacter</i>	
ANTIBIOTICOS UTILIZADOS EN EL CONTROL DE LA INFECCION	18
Penicilinas: Ampicilina	18
Ticarcilina	
Amoxicilina-clavulánico	
Cefalosporinas: 1a generación Cefazolina	20
2a generación Cefuroxima	
3a generación Cefotaxima	
Ceftazidima	
Nuevos betalactámicos: Imipenem	22
Aztreonam	
Aminoglucósidos: Gentamicina	23
Tobramicina	
Trimetoprim-Sulfametoxazol	24
Quinolonas: Ac. Nalidíxico	24
Ciprofloxacino	

MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS	26
Mecanismos generales de resistencia	26
Bases genéticas de los mecanismos de resistencia:	26
Codificación genética de la resistencia:	27
cromosomas	
plásmidos	
trasposones	
Mecanismos de resistencia	28
- Inhibición enzimática	
- Alteración de la membrana	
- membrana externa	
- membrana interna	
- Aumento de expulsión de los antibióticos	
- Modificación de los centros activos del ribosoma	
- Modificación de los puntos diana	
- Bypass de la vía enzimática	
 MECANISMOS DE RESISTENCIA EN LOS DIFERENTES GRUPOS ANTIMICROBIANOS	 31
Resistencia a Betalactámicos	31
- betalactamasas	
- clasificación de las betalactamasas	
- betalactamasas cromosómicas	
- betalactamasas inducibles	
- betalactamasas plasmídicas	
- contribución de las betalactamasas a la resistencia a los betalactámicos	
- disminución de la permeabilidad de la pared	
- modificación de las PBP	
- significado clínico de las resistencias	
- propagación de las resistencias	
Resistencia a Aminoglucósidos	46
Resistencia a Sulfonamidas y Trimetoprim	49
Resistencia a Quinolonas	52
 CEPAS MULTIRRESISTENTES	 53

MATERIAL Y METODOS **69**

- Elección de hospitales participantes 70
- Recogida de cepas 72
- Estudios de identificación 74
- Determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos:CMI 74
- Cepas multirresistentes 79
- Tratamiento informático de los resultados 80

RESULTADOS **87**

- Identificación 88
- Distribución por comunidades 90
- Servicio de procedencia de las muestras 90
- Tipo de muestra 93
- Sensibilidad a los antimicrobianos: 95
 - Sensibilidad de las enterobacterias 96
 - resistencia en las diferentes comunidades autónomas 97
 - sensibilidad según el género 98
 - especies bacterianas 103
 - Sensibilidad de los bacilos no fermentadores 109
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - *Acinetobacter calcoaceticus* var *anitratus*
 - Cepas multirresistentes 111

DISCUSION **154**

- Incidencia de las diferentes especies 155
- Resistencia de las enterobacterias 155
- Distribución de las resistencias de las enterobacterias según la Comunidad Autónoma

RESISTENCIA A BETALACTAMICOS	156
<ul style="list-style-type: none"> - Betalactamasas cromosómicas - Papel de las betalactamasas inducibles en la resistencia a los betalactámicos - Betalactamasas plasmídicas - Betalactamasas de espectro ampliado - Papel de las betalactamasas plasmídicas en la clínica. 	
RESISTENCIA A AMINOGLUCOSIDOS	170
RESISTENCIA A COTRIMOXAZOL	173
<i>E. coli</i>	
RESISTENCIA A QUINOLONAS	176
CEPAS MULTIRRESISTENTES	178
CONCLUSIONES	180
BIBLIOGRAFIA	184

ANTECEDENTES DEL TEMA Y OBJETIVOS

La importancia de los bacilos gram negativos en la infección hospitalaria ha ido incrementándose paulatinamente desde la década de los 60. En Estados Unidos, en 1983, las enterobacterias eran responsables de más de la mitad de todas las infecciones nosocomiales (Mayer y Zinner, 1985). Este incremento ha sido consecuencia del empleo de técnicas invasivas de diagnóstico, abuso de antibióticos, aparición de resistencias, aumento del número de pacientes inmunocomprometidos (transplantes, cáncer) etc. Si a esto añadimos su ubicuidad en el hospital y la facilidad de diseminación de los mecanismos de resistencia (mediante plásmidos, etc.) nos daremos cuenta de la importancia de estos bacilos (Acar y cols, 1977).

Además de su importancia cuantitativa, los bacilos gramnegativos son motivo de preocupación en la clínica por la rápida aparición de resistencias incluso a los antibióticos más modernos como las cefalosporinas de tercera generación (Phillipon y cols, 1990) y las fluorquinolonas (Baquero, 1987). En ocasiones en la clínica, por la gravedad de los cuadros producidos no existe tiempo para conocer el patógeno causante y se hace necesario un tratamiento empírico. Es muy importante por lo tanto conocer la sensibilidad de los bacilos a los que se están tratando y estar muy atento a la aparición de cepas resistentes que pueden hacer fracasar este tratamiento. También es importante conocer el agente etiológico ya que en algunos microorganismos (*Pseudomonas*, *Enterobacter*, etc) la aparición de resistencias *in vivo* durante el tratamiento es frecuente (Pechére, 1989).

A la hora de evaluar los datos existentes en la bibliografía sobre las resistencias, hay que tener en cuenta que en ocasiones la metodología no es igual en todos los centros y por supuesto no se realiza siempre por las mismas personas. La aparición de cepas resistentes en un paciente incita al clínico a obtener más muestras del mismo y por tanto alterar la cifra real de la incidencia de estas resistencias (McGowan, 1983). Muchos de los datos de resistencia provienen de brotes concretos y no se pueden extrapolar estos datos a la realidad de un país y ni siquiera a la de un hospital

concreto. En ocasiones los datos provienen de centros especializados (quemados, oncológicos, etc.) por lo que no se puede generalizar en la población general.

Todas estas circunstancias hacen que para adquirir una impresión general de la situación en un momento dado en un país, sea necesario un estudio multicéntrico en el que los datos se elaboren en un solo hospital y si es posible por una sola persona. Este trabajo intenta acercarse al estudio multicéntrico ideal en el que se evitan los problemas expuestos anteriormente.

OBJETIVOS

- 1.- Conocer la prevalencia de bacilos Gram negativos en una muestra amplia y no seleccionada.
- 2.- Estudiar la frecuencia de los diferentes géneros y especies de estos aislados.
- 3.- Conocer la prevalencia de resistencia a diferentes antimicrobianos.
- 4.- Conocer la distribución geográfica de la resistencia a los antibióticos.

ENTEROBACTERIAS E INFECCION

La familia de las enterobacterias está constituida por más de 20 géneros bacterianos la mayoría de ellos con gran importancia en patología humana. Los miembros de esta familia poseen las siguientes características generales: son bacilos gram negativos anaerobios facultativos, no forman esporas, reducen los nitratos a nitritos, (excepto algunas cepas del género *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Yersinia*, etc.) fermentan la glucosa y son oxidasa negativos. Los géneros con mayor importancia médica son los siguientes: *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Proteus*, *Providencia*, *Yersinia* y *Morganella*.

Epidemiología.- La distribución de las enterobacterias es muy amplia y se pueden encontrar en el suelo, las plantas, y como saprofitos en el intestino de animales y humanos. Normalmente en los humanos no se encuentran fuera del tracto intestinal pero suelen causar numerosas infecciones sobre todo del aparato genitourinario. En enfermos hospitalizados, o cuando existe una alteración de las barreras anatómicas, las enterobacterias pueden causar neumonías, meningitis, septicemia, formación de abscesos, etc. Las enterobacterias son una de las principales causas de infección nosocomial (Mandel y cols, 1990).

Estas bacterias constituyen, aproximadamente, el 80% de los aislamientos significativos de gram negativos y la mitad de todos los aislamientos clínicos significativos (Kelly y cols., 1985).

Para el control de las infecciones hospitalarias, es interesante saber si una especie aislada de una muestra es igual a otra de otra procedencia. Estas determinaciones, a veces, nos ayudan a saber la forma de la transmisión de éstas infecciones o su origen. En relación con éste control de la infección, es interesante saber que, en general, todos los descendientes de una bacteria son clónicos y por tanto es posible detectar nuevos cambios o introducción de plásmidos en las bacterias "ya conocidas" de un hospital (Achtman y Pluschke, 1986). Con fines epidemiológicos, se están buscando determinados plásmidos (que confieren resistencia a un determinado antibiótico etc.) en las cepas de algunos hospitales (Farrar, 1983). En algunas ocasiones, debido a la plasticidad genética de estos

plásmidos, se consideran mejores marcadores determinados segmentos cromosómicos (Thompkins y cols., 1986).

ESPECIES PATOGENAS DE ENTEROBACTERIAS

A continuación, vamos a reseñar brevemente algunas de las características de las especies de enterobacterias más frecuentemente implicadas en infección humana.

E. coli

La bacteria *Escherichia coli* fermenta la glucosa, la arabinosa, el sorbitol, casi todas las cepas también fermentan la lactosa y no suele fermentar el arabinósido. Es indol positivo, y Voges-Proskauer negativo. *Escherichia coli* es uno de los organismos mejor conocidos genéticamente.

E.coli, es el causante más frecuente de infecciones comunes tales como las del tracto urinario, bacteriemia, y diarrea del viajero. Causa gran número de meningitis neonatal y puede causar numerosos cuadros como neumonías, etc.

Infecciones intestinales. - *E. coli* se aisló por primera vez como agente causante de diarrea infantil en 1920 (Adam, 1923). En la década de los 80, este microorganismo ha sido reconocido como el mayor productor de la diarrea del viajero (Ericsson y DuPont, 1985). Las infecciones intestinales pueden producirse por cuatro variedades diferentes de *E. coli*. A su vez estas cuatro variedades, producen cuatro mecanismos patogénicos diferentes. *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), es el productor de la diarrea del viajero. *E.coli* enteropatógeno (EPEC) es el productor de la diarrea de los niños. *E.coli* enteroinvasivo (EIEC) produce una enfermedad parecida a la disentería producida por *Shigella* y *E.coli* enterohemorrágico (EHEC) produce colitis hemorrágica y se ha asociado al síndrome urémico-hemolítico en los niños.

Infecciones urinarias.- El sitio más frecuente de infección por *E. coli* es el tracto urinario y puede causar desde uretritis banales hasta pielonefritis. La mayoría de las infecciones banales se producen en mujeres y se circunscriben a la vejiga. Esto es debido al pequeño tamaño de la uretra, y a su proximidad a la región anal. Las infecciones complicadas se suelen producir por obstrucciones del flujo urinario, bien por hipertrofia prostática, cálculos o anomalías congénitas, o bien por cuerpos extraños (sondas etc.). La presencia de cuerpos extraños facilita notablemente la infección por *E. coli* (Johnson y cols, 1987).

El paciente tipo con una cistitis no complicada por *E. coli* es una mujer joven, sexualmente activa, que no tiene alteraciones morfológicas del tracto urinario ni ha sido manipulada urológicamente.

Infecciones respiratorias.- Mientras que las cepas de *E.coli* que producen infecciones urinarias y gastrointestinales tienen factores especiales de virulencia, las infecciones respiratorias son de carácter oportunista. Aunque la vía de acceso al pulmón puede ser hematógena, la gran mayoría de las veces los microorganismos penetran a través de microaspiraciones de secreciones respiratorias previamente colonizadas (Johanson y cols., 1979).

La fibronectina recubre la mucosa del tracto respiratorio superior y actúa como receptor específico de bacterias gram positivas. Ante una situación de stress aparece en la saliva una proteasa que destruye la fibronectina. Ante la ausencia de la fibronectina, los gram positivos no pueden colonizar estas mucosas y consecuentemente se altera el nicho ecológico. Esta alteración facilita la colonización por bacilos gram negativos. En presencia de cuerpos extraños o en la ausencia del reflejo tusígeno, esta colonización puede ser mayor y los microorganismos acceder fácilmente al pulmón. Por las razones expuestas, la neumonía por *E. coli* suele ser nosocomial. No obstante, pacientes con diabetes mellitus, alcoholismo o EPOC, también pueden adquirir una neumonía por *E. coli* extrahospitalariamente.

Bacteriemia.- *E. coli* es la causa más frecuente de bacteriemia nosocomial con una incidencia en USA en 1979 de 2.7 por 10.000 altas hospitalarias (CDC, 1982). A pesar de que es normal la colonización de la mucosa gastrointestinal por parte de *E. coli*, la invasión hacia el torrente sanguíneo es poco frecuente. Las bacteriemias se suelen asociar a infección urinaria por obstrucción. Una vez en el torrente sanguíneo, las toxinas bacterianas pueden producir shock, CID y deplementación. Todas estas alteraciones están producidas por la endotoxina LPS. Una línea de investigación muy desarrollada actualmente, es la producción de anticuerpos monoclonales frente a esta toxina, con el fin de utilizarlos para el tratamiento del shock séptico por Enterobacterias.

Género *Proteus*

Comprende las especies *P. mirabilis* y *P. vulgaris*. Ambas son muy móviles. *P. mirabilis* es indol negativo.

Dentro de las Enterobacterias estas especies se aíslan en las muestras hospitalarias con una frecuencia solo superada por *E. coli* (CDC, 1982). Las infecciones urinarias por estas especies se asocian frecuentemente con cálculos. Ello es debido a que poseen una enzima (ureasa) que puede desdoblar la urea, incrementando la concentración de amoníaco y elevando el Ph urinario, facilitando la formación de cristales de fosfato amónico magnésico (estruvita). A su vez, estos cálculos actúan como cuerpos extraños que obstruyen el flujo urinario y hacen que estas infecciones tengan un carácter crónico y destructivo para el parénquima renal.

P. mirabilis produce un 10% de las infecciones urinarias complicadas y puede producir neumonía y septicemias en pacientes debilitados.

Género *Salmonella*

De acuerdo con los estudios del ADN, este género se subdivide en 6 subgrupos. Las especies productoras de patología humana se incluyen en el grupo I. Existen en este subgrupo unos 1800 serotipos. Se incluyen en estos 1800 serotipos *S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. enteritidis*, etc. En la práctica se trata cada uno de estos serotipos como especies.

El ser humano es el único reservorio de *Salmonella typhi*. El resto de las especies del género *Salmonella* son patógenos de los animales inferiores. A partir de estos reservorios es posible adquirir la enfermedad en el hombre. Generalmente se adquiere por transmisión fecal-oral a través de agua y alimentos contaminados. Los huevos contaminados de las aves de corral son responsables de la mitad de las infecciones por *Salmonella*. El resto de estas infecciones se puede adquirir ingiriendo carne cruda, leche, etc. o a partir de animales de compañía (sobre todo las tortugas).

Se calcula que se necesitan entre 10^6 y 10^8 bacterias para producir la infección. Sin embargo, en pacientes debilitados con pH gástrico alto o con alteraciones de la flora intestinal, la cantidad necesaria es menor. Mientras que *S. typhi* siempre atraviesa el intestino delgado produciendo síntomas generales (fiebre tifoidea), el resto de las especies suelen producir cuadros más locales como gastroenteritis, infección urinaria, etc. Aun así, pueden atravesar la mucosa gástrica, reproducirse en las células mononucleares y alcanzar a través del *ductus toracicus* la circulación sistémica pudiendo infectar cualquier órgano. Si alcanzan la vesícula biliar se pueden reproducir allí y entonces comienzan a liberarse multitud de bacilos al intestino.

Las salmonellas producen 5 síndromes clínicos diferentes. La enterocolitis o gastroenteritis, fiebre tifoidea, bacteriemia, infecciones localizadas y estado de portador.

Género *Klebsiella*

Este género comprende 5 especies: *K. pneumoniae*, *oxytoca*, *planticola*, *ozaenae*, y *rhinoscleromatis*.

Los patógenos más frecuentes son: *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*. Ambos son bacilos gram negativos inmóviles, capsulados, fermentadores de la lactosa y Voges-Proskauer positivo. *K. oxytoca* es, al contrario que *K. pneumoniae*, indol positivo.

K. pneumoniae se asocia con la neumonía lobar adquirida extrahospitalariamente por pacientes con problemas de base como alcoholismo, diabetes mellitus y EPOC. Típicamente esta neumonía se caracteriza por su carácter destructivo, el esputo hemoptoico y los signos radiológicos de neumonía necrotizante. Existe una gran propensión hacia la abscesificación, cavitación y adherencias pleurales. Tiene una elevada mortalidad. Recientemente se ha asociado a *Klebsiella* con el 9% de infecciones urinarias, con el 14% de las bacteriemias hospitalarias y con el 8% de las infecciones nosocomiales (CDC, 1982). Los sitios más frecuentes de infección son el tracto urinario, los pulmones, y heridas quirúrgicas.

Las otras especies del género *Klebsiella* son menos frecuentes en la producción de infecciones hospitalarias.

Klebsiella ozaenae se asoció a la producción de la rinitis atrófica denominada ozena pero no está clara ni la patogénesis ni por qué el tratamiento antibiótico contra esta especie mejora el cuadro.

Klebsiella rhinoscleromatis se asocia a infecciones respiratorias altas y a la producción de un granuloma crónico en la mucosa del aparato respiratorio que puede producir invasión ósea y obstrucción de la vía aérea.

Género *Enterobacter*

El género *Enterobacter* incluye las siguientes especies patógenas para el hombre: *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *E. gergoviae*, *E. sakazakii*. Son organismos móviles, con cápsula fina, generalmente indol negativo y pueden fermentar la lactosa.

Todas las especies del género suelen ser oportunistas y se asocian a infecciones urinarias, infecciones en pacientes quemados, y en enfermos tratados con antibióticos.

Enterobacter cloacae es la especie más frecuente y junto a *E. agglomerans*, produjo en USA una contaminación de catéteres intravenosos que afectó a 378 pacientes en 25 hospitales (Maki y cols., 1976). Si no se llevan a cabo las precauciones higiénicas básicas entre el personal sanitario, las enterobacterias y en especial el *Enterobacter*, pueden tener una gran difusión dentro de un hospital.

Género *Serratia*

El género *Serratia* es un oportunista descrito por primera vez como patógeno humano en 1960. Son Voges-Proskauer positivo, no producen SH₂ y algunas especies pueden fermentar la lactosa.

Aunque se han descrito 4 especies patógenas en este género, *S. marcescens*, *S. liquefaciens*, *S. rubidea*, y *S. odorifera*, la más importante desde el punto de vista de la patología humana es la primera.

Las especies de este género se diferencian del resto de las enterobacterias, en que es más difícil encontrarlas colonizando el tracto gastrointestinal, aunque pueden producir también infecciones respiratorias y urinarias en los pacientes hospitalizados. En los neonatos el tracto gastrointestinal si puede ser un reservorio para las serratias, y por lo tanto origen de infecciones cruzadas (Christiansen

y cols. , 1982). Dentro de las infecciones nosocomiales las especies de este género causan el 4% de las bacteriemias e infecciones respiratorias y el 2% de las infecciones urinarias. Se han asociado también a infecciones en heroinómanos (Mills y Drew, 1976) y en pacientes oncológicos (Bodey y cols, 1970).

Género *Citrobacter*

Comprende las especies *C. freundii*, *C. diversus* y *C. amalonaticus*. Son Voges-Proskauer negativo y *C. freundii* produce SH2 en un 80% de los casos. Se asocian a infecciones urinarias y respiratorias nosocomiales y *C. diversus* produce meningitis y abscesos cerebrales en neonatos.

BACILOS GRAM NEGATIVOS NO FERMENTADORES DE LA GLUCOSA E INFECCION

Dentro de este apartado trataremos los géneros *Pseudomonas* y *Acinetobacter*.

Género *Pseudomonas*

Pertenecen a este género las especies *P. aeruginosa*, *P. luteola*, *P. maltophilia* etc. Por su importancia y frecuencia solo nos vamos a referir a *P. aeruginosa*.

Pseudomonas aeruginosa

Este microorganismo es un oportunista gram negativo, móvil, oxidasa positivo y que no fermenta los azúcares. La mitad de las cepas producen piocianina que da un color verdoso en un medio de cultivo alcalino o a pH neutro. Necesita muy pocos nutrientes para su crecimiento y es capaz de crecer en agua destilada.

En Norte América, *P. aeruginosa*, es la cuarta causa de infecciones hospitalarias, la segunda de neumonías nosocomiales (13. 1% de todas las neumonías) y la tercera de infecciones urinarias (11. 7%). Es la cuarta causa de bacteriemia y se asocia con una alta mortalidad.

Puede producir endocarditis en drogadictos por vía intravenosa, o sobre prótesis valvulares, queratitis, lesiones dérmicas (ectima gangrenoso), infecciones del SNC, otitis externa, etc.

Género *Acinetobacter*

Este género pertenece a la Familia *Neisseriaceae*. Son bacilos gramnegativos, no fermentan la glucosa, son oxidasa negativos, catalasa positivos, inmóviles (acinetos) y se diferencian del resto

de los miembros de su familia en sus escasos requerimientos nutritivos. Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y pueden colonizar tanto la piel de pacientes como de personal sanitario. Existen dos especies: *A. calcoaceticus* variedad *lwoffii* y *Acinetobacter calcoaceticus* variedad *anitratus*. El primero tiende a colonizar el tracto genitourinario y el segundo el resto del organismo.

Ambos son oportunistas y producen infecciones supurativas. Se asocian a infecciones en las UCIs, infecciones de tejidos blandos, y bacteriemia.

Antes de plantearse una terapia, hay que estar seguros que el *Acinetobacter* spp es el causante del cuadro infeccioso, pues con gran frecuencia esta presente como contaminante.

ANTIBIOTICOS UTILIZADOS EN EL CONTROL DE LA INFECCION

Estrictamente hablando, la palabra antibiótico se debería utilizar para denominar a aquella sustancia de origen biológico capaz de inhibir el crecimiento de una bacteria. El resto de las sustancias que también inhiben el crecimiento bacteriano pero tienen su origen en la síntesis química se denominan quimioterápicos. Hoy en día la palabra antibiótico se emplea para las sustancias de ambos orígenes.

A pesar de que el número de Antibióticos es muy elevado, en esta introducción solo haremos mención a aquellos que posteriormente utilizaremos para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

PENICILINAS

La penicilina fue el primer antibiótico identificado en un laboratorio. Se produce en tanques de fermentación a partir del *Penicillium notatum*. Tiene actividad bactericida y actúa inhibiendo la de la pared bacteriana. Una de las clasificaciones útiles de las penicilinas se realiza según su espectro antimicrobiano.

AMPICILINA

La ampicilina es una penicilina de amplio espectro que se destruye por las betalactamasas. Es un antibiótico bactericida y es algo menos activo que la penicilina G para los microorganismos sensibles a este último fármaco. Este antibiótico se comenzó a utilizar a principios de 1960 y por aquel entonces las enterobacterias eran muy susceptibles. En 1980 del 30-50 % de *E. coli* eran resistentes, un número significativo de *P. mirabilis* y prácticamente todos los *Enterobacter*. Casi todas las cepas de *Shigella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas*, y *Acinetobacter* son

resistentes. Puede producir como efectos secundarios enterocolitis, diarrea y reacciones de hipersensibilidad.

La ampicilina se absorbe bien por vía oral y se elimina más lentamente que la penicilina por vía renal, pero al igual que en esta última, el probenecid retarda su eliminación. La ampicilina aparece en bilis, experimenta circulación enterohepática y se excreta en cantidades apreciables por las heces.

TICARCILINA

Es una penicilina semisintética con actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*, y algunos *P. mirabilis* resistentes a ampicilina. Su empleo se reserva a infecciones graves producidas por bacilos gramnegativos sobre todo de carácter nosocomial.

AMOXICILINA-ACIDO CLAVULANICO

El ácido clavulánico es un inhibidor de las betalactamasas. Por sí solo tiene muy poca actividad antibacteriana, pero en combinación con las penicilinas aumenta la actividad de éstas notablemente. En realidad el ácido clavulánico actúa como "un cebo" con gran afinidad para las betalactamasas; en la unión de ambos se impide que las enzimas destruyan la amoxicilina. Está indicada ésta combinación en todas aquellas infecciones en las que existe un microorganismo sensible a la penicilina pero productor de determinadas betalactamasas. Terapéuticamente se emplea en la relación Amoxicilina-Acido clavulánico 4/1. Están descritos pocos efectos secundarios.

CEFALOSPORINAS

Las cefalosporinas son Antibióticos con un mecanismo de acción similar al de las penicilinas. Sin embargo, las últimas también son resistentes a las penicilinasas. Atendiendo a su espectro antibacteriano se clasifican en cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación.

CEFALOSPORINAS DE PRIMERA GENERACION: CEFAZOLINA

Las cefalosporinas de primera generación son las más activas frente a cocos gram positivos (incluyendo *S. aureus*, salvo los SAMR y estreptococos, salvo para Enterococo) y son las menos activas frente a enterobacterias.

La cefazolina es uno de los representantes de este grupo. Se debe administrar por vía parenteral y debido al dolor que produce por vía intramuscular no se suele administrar de esta forma. Es activa frente a *E. coli* y *Klebsiella* spp. Es la cefalosporina de primera generación más utilizada debido a su vida media más larga y a la posibilidad por tanto, de administrarla más espaciadamente que el resto (Levy, 1984). Tiene un gran uso como agente profiláctico en las intervenciones quirúrgicas.

CEFALOSPORINAS DE SEGUNDA GENERACION: CEFUROXIMA

Las cefalosporinas de segunda generación son más activas frente a *E. coli*, *Klebsiella* spp, y *Proteus vulgaris*, que las de primera generación. Al igual que estas últimas no tienen actividad frente a *Pseudomonas* spp.

La cefuroxima además del espectro antibacteriano citado, tiene actividad frente a *Enterobacter* spp. Es más resistente a la acción de las betalactamasas que otros miembros de esta generación y es

la única que penetra en el líquido cefalorraquídeo. Se debe administrar i. v. cada ocho horas. Recientemente se ha comercializado cefuroxima axetil que puede administrarse por vía oral.

CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACION: CEFOTAXIMA Y CEFTAZIDIMA

Las cefalosporinas de tercera generación son las más activas frente a bacilos gram negativos. Son resistentes a muchas de las betalactamasas producidas por los bacilos gram negativos y son activas frente a la mayoría de los microorganismos resistentes a las cefalosporinas de primera y segunda generación. Las cefalosporinas de tercera generación se dividen en dos grupos atendiendo a su actividad frente a *P. aeruginosa*. La cefotaxima tiene poca actividad frente a *P. aeruginosa* mientras que la ceftazidima sí la tiene.

La cefotaxima es muy resistente a las betalactamasas y tiene buena actividad frente a algunos gram positivos (como neumococos) y frente a gram negativos (excepto *Pseudomonas spp*). *E. cloacae* y *Acinetobacter* tiene una moderada sensibilidad. Penetra bien en el líquido cefalorraquídeo.

La ceftazidima es la cefalosporina de tercera generación con mayor actividad frente a *P. aeruginosa*, 4 microgramos/ml inhiben el crecimiento del 90% de los aislados de esta especie. Es la menos activa frente a gram positivos y tiene poca actividad frente a anaerobios. Llega lo suficientemente bien al LCR como para tratar meningitis.

OTROS BETALACTAMICOS: IMIPENEM Y AZTREONAM

IMIPENEM

El imipenem es un carbapenem descubierto en España a principios de los 70. Posee unas características estereoquímicas que lo diferencian de las penicilinas y las cefalosporinas. El imipenem tiene una actividad *in vitro* muy buena frente a estreptococos. Una concentración de 1 microgramo/ml inhibe *in vitro* a la mayoría de las Enterobacterias. Algunos *Proteus* spp tienen valores de CMI entre 2 y 4 microgramos/ml. *P. aeruginosa* tiene una CMI entre 1-6 microgramos/ml. Es un antibiótico bactericida y tiene un mecanismo de acción parecido al de las penicilinas. No se inactiva por las betalactamasas plasmídicas o cromosómicas de las Enterobacterias, no es activo frente a SAMR y *S. aureus* no resistente a meticilina y no es bactericida frente a enterococo. Es activo frente a anaerobios. Es el de mayor espectro conocido. Su administración es por vía parenteral y tiene relativamente pocos efectos secundarios.

Se inactiva por una dihidropeptidasa renal por lo que se administra junto con un inhibidor de dicha enzima, sin actividad antibacteriana, *cilastatina*.

AZTREONAM

El aztreonam es un betalactámico monocíclico con muy poca actividad frente a gram positivos y anaerobios. Tiene un mecanismo de acción parecido al resto de los betalactámicos. Es muy útil frente a Enterobacterias pero algunas cepas de *E. cloacae*, *C. freundii*, y *P. aeruginosa*, son resistentes. Se debe administrar por vía parenteral y tiene pocos efectos secundarios. Parece que puede utilizarse en pacientes alérgicos a otros betalactámicos.

AMINOGLUCOSIDOS

Estos fármacos son aminociclitoles con unión glucosídica a aminoazúcares. Son compuestos polares lo que explica su farmacocinética. No se absorben bien por vía oral, no penetran bien en el líquido cefalorraquídeo y se excretan bien por el riñón sano. Uno de sus representantes, la estreptomicina, fue aislada por primera vez por Waksman en 1943 a partir del *Streptomyces griseus*.

Son fármacos bactericidas que actúan en el ribosoma bacteriano inhibiendo la síntesis de proteínas. Su espectro antibacteriano se circunscribe casi sólo a bacilos gram negativos aerobios y anaerobios facultativos (todas las enterobacterias). La estreptomicina fue el primer fármaco útil contra el bacilo tuberculoso. Algunos son muy oto y nefrotóxicos.

GENTAMICINA

La utilización de la gentamicina se reserva para infecciones graves en las que no es posible utilizar un antibiótico menos tóxico o bien en aquellas infecciones en las que no se conoce el agente etiológico y se pretende realizar una buena cobertura antibiótica con lo cual se suele asociar a otros fármacos (generalmente penicilinas o cefalosporinas). Se utiliza en infecciones por *P. aeruginosa*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia* y otros gram negativos resistentes a las penicilinas o cefalosporinas.

TOBRAMICINA

La tobramicina tiene una actividad antimicrobiana y unas propiedades farmacocinéticas muy parecidas a las de la gentamicina. Aun así, parece ser que es menos tóxica, y que su actividad frente a *P. aeruginosa*, es mayor y frente a *Serratia* spp menor. Es ineficaz contra las micobacterias.

TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL

El cotrimoxazol o trimetoprim-sulfametoxazol, es la combinación de una sulfonamida (el sulfametoxazol) y una diaminopirimidina (el trimetoprim). La combinación de ambos fármacos se basa en su acción sobre pasos secuenciales en la reacción enzimática de la síntesis del ácido tetrahidrofólico. La sulfonamida inhibe la incorporación del ácido para-amino-benzoico al ácido fólico y el trimetoprim inhibe la reducción de dihidrofolato a tetrahidrofolato. Estos pasos enzimáticos son esenciales en la síntesis de ácidos nucleicos. La proporción más efectiva entre ambos compuestos es la de 19 partes de sulfametoxazol por 1 de trimetoprim (Goodman, 1980). Se emplea sobre todo en infecciones urinarias producidas por enterobacterias. No es útil esta asociación frente a *P. aeruginosa*.

QUINOLONAS: ACIDO NALIDIXICO Y CIPROFLOXACINO

Las quinolonas, son antibióticos cuyo primer representante fue el ácido nalidíxico descrito por Lescher y sus colaboradores en 1962 (Lescher y cols. , 1962). A pesar del gran número de quinolonas descritas, todas tienen una estructura y mecanismo de acción comunes. Tienen un efecto bactericida e inhiben el crecimiento bacteriano al actuar sobre las DNA girasas.

ACIDO NALIDIXICO

El ácido nalidíxico es activo frente a las Enterobacterias a excepción de *Serratia* spp. *P. aeruginosa*, también es resistente. Curiosamente, la resistencia se puede producir *in vitro* con pases sucesivos en concentraciones crecientes de ácido nalidíxico (Buchbinder y cols. , 1962), por lo tanto, en un tratamiento de una infección urinaria, se debe probar la sensibilidad del agente infeccioso cada poco tiempo. Es activo por vía oral. Tiene efectos secundarios, pudiendo producir anemia hemolítica, alteraciones gastrointestinales, oculares y lesiones dérmicas fotosensibles. La aparición de quinolonas más activas y menos tóxicas han hecho que su uso se reduzca casi totalmente.

CIPROFLOXACINO

Ciprofloxacino es más de 100 veces más activo que el ácido nalidíxico en su acción antimicrobiana. Es activo frente a la gran mayoría de bacilos gram negativos. Tiene efectos secundarios sobre las gónadas y sobre los cartílagos por lo que su uso debe estar muy restringido en niños y adolescentes.

MECANISMO DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS

MECANISMOS GENERALES DE RESISTENCIA

Aunque se han descrito numerosos mecanismos de resistencia a los antibióticos, en ocasiones casi propios de cada especie bacteriana, en este apartado solo nos referiremos a los mecanismos generales de resistencia, comentando posteriormente en cada grupo antimicrobiano los mecanismos específicos de resistencia.

BASES GENETICAS DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA

Introducción:

La variabilidad genética es esencial para la evolución. La presión selectiva de los antibióticos sobre una bacteria en la que se ha producido un cambio en su dotación genética, hace que en una población dada, se seleccionen las mutantes resistentes a estos antibióticos. Existen tres mecanismos por los cuales se puede producir esta variabilidad genética. El primero de ellos es la producción de una mutación puntual. La enzima o proteína que codificaba este segmento de ADN mutado, pueden alterar su composición y por lo tanto ya no ser sustrato para un antibiótico. Un segundo paso es el cambio de grandes segmentos de ADN. Estos cambios se conocen como duplicaciones, inversiones, inserciones, deleciones o transposiciones. En las bacterias existen segmentos de ADN con gran movilidad dentro del cromosoma o entre el cromosoma y un plásmido conocidos como trasposones. Un tercer paso sería la adquisición de ADN nuevo procedente del exterior de la bacteria. Este ADN se puede "transportar" a través de plásmidos, ó bacteriófagos. Una vez que una bacteria adquiere un mecanismo de resistencia, se puede propagar a otras bacterias a través de mecanismos conocidos como transducción, conjugación, transformación y transposición.

Codificación genética de las resistencias.

Todos los cambios citados en el ADN, pueden llevarse a cabo en alguno de los segmentos siguientes: cromosomas, plásmidos y trasposones.

Cromosomas. - Existen mecanismos de resistencia a los Antibióticos codificados en los cromosomas. Estos mecanismos pueden ser de carácter general y por lo tanto afectar a varios antimicrobianos (impermeabilidad de la pared, etc.) o por el contrario afectar a un sólo grupo antimicrobiano (alteraciones de las PBPs, ribosomas, etc). Entre los mecanismos de resistencia cromosómica mejor conocidos, destaca la producción de betalactamasas de la clase I inducidas o desreprimidas de forma estable (Lindenberg, 1988).

Plásmidos. - Los plásmidos son segmentos de ADN circular de doble hélice, extracromosómico que pueden tener un tamaño desde menos de 10 hasta 400 pares de kilobases. Una misma bacteria puede tener varias copias del mismo plásmido o distintos plásmidos, sin embargo es raro encontrar plásmidos con cierta semejanza de ADN entre si. Esto permite hacer una clasificación de los plásmidos en grupos incompatibles entre si(Tomasz, 1979). Se piensa que los plásmidos estaban en las bacterias antes de la aparición de los antibióticos (Datta, 1985). Sin embargo la utilización de los antibióticos ha provocado una presión selectiva sobre estos elementos genéticos móviles. Estos plásmidos además de codificar resistencia a los Antibióticos, también codifican funciones metabólicas y factores de virulencia. Los plásmidos se reproducen de una forma autónoma de tal forma que se pueden reproducir con, o independientemente, de la bacteria. Los plásmidos que pueden realizar la conjugación, tienen genes adicionales para iniciar la transferencia. La transferencia de plásmidos entre bacterias es un proceso complejo que suele implicar la conjugación de plásmidos de gran tamaño.

Los plásmidos están involucrados en la propagación de la resistencia a los antibióticos por diferentes mecanismos. El primero de ellos es la mera división de una bacteria resistente lo que produce células clonales hijas también resistentes. El segundo de ellos es el mecanismo mediante el cual el plásmido de una bacteria resistente pasa por conjugación a otra que no lo era. El tercer

mecanismo es aquel en el que tanto un plásmido como un trasposón pasan a una bacteria "virgen" y el trasposón puede pasar a un plásmido que ya tenía la bacteria. . El cuarto y último es aquel en el que un trasposón pasa por conjugación en un plásmido y de este al cromosoma bacteriano comportándose como un elemento genéticamente estable.

Trasposones. -Los trasposones son segmentos de ADN que pueden translocarse desde un área del cromosoma a otra o desde el cromosoma a un plásmido o al ADN de un bacteriófago.

Mientras que los trasposones codifican una determinada característica fenotípica existen fragmentos de ADN móviles denominados segmentos de inserción que no son reconocibles fenotípicamente. Ambos elementos genéticos son incapaces de replicarse de una forma autónoma y necesitan un replicón en el cromosoma, plásmido, o bacteriófago para replicarse. Ultimamente se ha descrito un nuevo elemento genético móvil denominado trasposón conjugativo que es capaz de pasar de un cromosoma bacteriano a otro sin necesidad de estar integrado en un plásmido o en un bacteriófago. Se han descrito tanto en organismos gram positivos aerobios y anaerobios (Solh y cols., 1986).

Mecanismos de resistencia

Se han descrito varios mecanismos de resistencia a los Antibióticos.

Inhibición enzimática

Mediante la producción de diferentes enzimas, las bacterias son capaces de inactivar los antibióticos. Los enzimas más representativos de este grupo son las betalactamasas y las enzimas que inactivan a los aminoglucósidos. Estas enzimas se trataran ampliamente en los mecanismos de resistencia a penicilinas y a aminoglicósidos.

Alteraciones de la membrana bacteriana.**Permeabilidad de la membrana externa**

Desde el comienzo de la utilización de la penicilina se observó que esta era útil para el tratamiento de los gram positivos pero no para los gram negativos. En gran parte, esto se debe, a que la membrana externa de los gram negativos dificulta la penetración al interior celular del antibiótico. Esta membrana externa está por fuera de la pared de peptidoglicano y está constituida por una bicapa lipídica. Los antibióticos como la polimixina o las mutaciones que alteran esta bicapa, aumentan la permeabilidad a los antibióticos hidrofílicos.

En ésta membrana externa se encuentran unos poros configurados por unas proteínas denominadas porinas. Estos poros son fundamentales para el metabolismo bacteriano ya que facilitan el intercambio de sustancias entre la bacteria y el exterior. Algunos antibióticos utilizan estas porinas para penetrar al interior bacteriano. Las mutaciones que afectan al número o bien a la cualidad de estas porinas, pueden alterar la difusión de los antibióticos. La resistencia a algunas cefalosporinas, al ácido nalidíxico y a otras quinolonas tiene relación con este fenómeno.

Alteraciones de la membrana interna.

La cantidad de aminoglucósido que penetra en una bacteria esta en relación directamente proporcional a su unión con un transportador aniónico no saturable que permite la penetración del antibiótico al interior celular. Este proceso necesita energía y un cierto umbral mínimo de carga negativa en el interior celular. El umbral de carga negativa necesaria depende de la concentración del aminoglucósido. En algunas mutantes a los aminoglucósidos la carga negativa interior es muy pequeña y por eso estos antibióticos no penetran al interior celular.

Aumento de la expulsión de Antibióticos

En *E. coli* se ha descrito un mecanismo mediante el cual la bacteria puede "expulsar" fluoroquinolonas del interior celular al exterior (Cohen y cols. , 1988).

Alteración de los sitios activos de los ribosomas

Se ha descrito resistencia a tetraciclinas, macrólidos, lincosamidas y aminoglucósidos por alteración de las dianas de estos antibióticos. Nos referiremos solo a la resistencia a los aminoglucósidos. La mutación en la proteína S12 de la subunidad 30S interfiere en la unión de la estreptomicina al ribosoma. La resistencia por alteraciones en el ribosoma a gentamicina, tobramicina y amikacina son raras ya que requieren múltiples mutaciones en todos los sitios de acción de la subunidad 30 y 50S.

Alteración de los puntos diana

Las alteraciones de las "penicillin binding proteins" (PBPs) lugar de acción de las penicilinas, hace que estos antibióticos tengan menos afinidad por estas proteínas y de esta manera no se vea alterada la síntesis de la pared celular. Este mecanismo está descrito sobre todo en cocos gram positivos.

Modificación de la vía enzimática

Algunas bacterias poseen la habilidad de alterar la vía enzimática que había sido interrumpida por la acción de algún antibiótico. El ejemplo más claro se encuentra en la resistencia al trimetoprim o sulfametoxazol y a las quinolonas.

MECANISMOS DE RESISTENCIA A LOS DIFERENTES GRUPOS ANTIMICROBIANOS**RESISTENCIA A BETALACTAMICOS**

Existen tres mecanismos fundamentales en la resistencia a los antibióticos betalactámicos: producción de betalactamasas, disminución de la permeabilidad de la pared y alteración de las PBPs.

Producción de betalactamasas.

Las betalactamasas son enzimas sintetizadas cromosómica o plasmídicamente que poseen la capacidad de hidrolizar el anillo betalactámico de las penicilinas, cefalosporinas, carbapenems y monobactams produciendo derivados sin actividad bacteriana.

Fleming fue el primero que observó, en 1929, que algunos grupos bacterianos (grupo "colityphoideos"), no se inhibían por la penicilina (Fleming, 1929). Abraham y Chain en 1940 confirmaron esta observación comprobando que un extracto de *E. coli* destruía a la penicilina. Propusieron que la penicilina se destruía por una enzima a la que llamaron penicilinasas. Aun así, hicieron notar que la penicilinasas podía no ser el único mecanismo de resistencia (Abraham y Chain, 1940). Desde esta época hasta 1960 la investigación de las penicilinasas se centró en los microorganismos gram positivos (sobre todo *Staphylococcus* spp.). Con el nacimiento, alrededor de 1960, de las penicilinas semisintéticas, meticilina y ampicilina, y las cefalosporinas, cefaloridina y cefalotina, se tornó el punto de mira hacia la resistencia de los bacilos gram negativos. Esto se produjo también por la capacidad de tratar las infecciones hospitalarias por gram negativos y por lo tanto, por la importancia de la aparición de resistencias (Medeiros, 1984). Si añadimos el descubrimiento de numerosas betalactamasas (Matthew, 1975), y la codificación genética de estas en plásmidos (Datta, 1965) o trasposones (Hedges, 1974), no es de extrañar que se incrementara la investigación tanto en los mecanismos de resistencia, como en el descubrimiento o síntesis de nuevos antibióticos resistentes a estas betalactamasas. El gran número de betalactamasas aparecidas, hizo necesaria la clasificación

de éstas. En esta revisión no hablaremos de las betalactamasas producidas por los microorganismos gram positivos.

Clasificación de las betalactamasas.

Se han hecho multitud de intentos de clasificar las betalactamasas. Desde los primeros intentos de clasificarlas según el peso molecular y el centro activo de la proteína (Richmond, 1965) hasta los más recientes según punto isoeléctrico e inhibición por clavulánico (Bush y cols, 1989) han pasado muchos años. Sin embargo, los intentos de clasificación no han cesado si además tenemos en cuenta la constante aparición de nuevas betalactamasas. No obstante, nosotros hemos adoptado la clasificación de Sykes y Matthew, adaptada por Neu, basada en el sustrato, codificación genética y la expresión (Tabla 1). En esta clasificación existen seis clases. La clase I son las betalactamasas inducibles y codificadas cromosómicamente. Sólo se encuentran en determinados géneros de enterobacterias y en *P. aeruginosa* (ver más adelante). Las clases II y IV se encuentran sólo en *Proteus* spp y *Klebsiella* spp respectivamente. La clase III incluye las enzimas codificadas plasmídicamente inhibidas por ácido clavulánico y que están ampliamente distribuidas entre los bacilos negativos. Son ejemplos de este grupo las TEM, SHV, HMS y también se incluyen aquí las betalactamasas de espectro ampliado. El grupo V incluye las enzimas que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas e isoxazolil penicilinas y también están codificadas en plásmidos. Son ejemplos de este grupo las oxacilinasas (OXA) y carbenicilinasas (PSE). La betalactamasa del grupo VI son cefalosporinasas cromosómicas. Además de esta clasificación nos parece interesante incluir la clasificación según sustrato (Mayer y cols, 1990) de las betalactamasas plasmídicas (Tabla 2) que pertenecen a la clase III y V de la clasificación anterior. Todas estas enzimas se producen de forma constitutiva y se pueden agrupar en tres clases:

- 1) las que hidrolizan benzilpenicilina y cefaloridina en la misma proporción.
- 2) las que hidrolizan rápidamente oxacilina y compuestos parecidos.
- 3) las que hidrolizan la carbenicilina.

Tabla 1. Betalactamasas de los bacilos gram negativos.

Clase	Substrato	Codificada	Expresión	Ejemplos	Caract
I	Sobre todo cefalosp.	Cromosoma	Inducible	Ent,Cit Ser,Pro Pae	No inhi bida por A. clav.
II	Sobre todo penicilinas	Plásmido	Constitutiva	Pro	Rara
III	Penicilinas y Cefalosp.	Plásmido	Constitutiva	BF,Hae, Ngo,Pae	Inhibida por A. clav.
IV	Penicilinas y Cefalosp.	Cromosoma	Constitutiva	Kle	
V	Penicilina y Cefalosp.	Plásmido	Constitutiva	BF,Pae	Inhibida por A. clav.
VI	Cefalosp.	Cromosoma	Constitutiva	Bac	

Tabla 2. Clasificación de las betalactamasas plasmídicas de los bacilos gram negativos según el sustrato:

Nombre	Prevalencia	Microorganismo	Características
Amplio espectro			
HMS-1	rara	Enterobacterias	
TEM-1	frecuente	Enterobacterias <i>P. aeruginosa</i>	La más frecuente
TEM-2	frecuente	Enterobacterias	# a TEM-1 por 1aa
TLE-1	rara	<i>E. coli</i>	Semejanza a TEM-1
TLE-2	rara	<i>K. pneumoniae</i> cefotetán	Afinidad por cefsulodina y
LCR-1	rara	<i>P. aeruginosa</i>	
NPS-1	rara	<i>P. aeruginosa</i>	
LXA-1	rara	Enterobacterias	Poca actividad
OHIO-1	rara	Enterobacterias	Solo en Ohio
SHV-1	frecuente	Enterobacterias	Cromosómica en <i>K. pneumoniae</i>
ROB-1	rara	<i>P. multocida</i>	Tb. en animales

Oxacilinasas

OXA-1	frecuente	Enterobacterias	2a más frec. en
		<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
OXA-2	frecuente	Enterobacterias	2a más frec. en
		<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salmonella</i>
OXA-3	rara	Enterobacterias	
		<i>P. aeruginosa</i>	
OXA-4	rara	Enterobacterias	rel. con OXA-1
OXA-5	rara	<i>P. aeruginosa</i>	
OXA-6	rara	<i>P. aeruginosa</i>	
OXA-7	rara	<i>E. coli</i>	

Carbenicilinasas

PSE-1 (CARB-2)	frecuente	Enterobacterias	La más frec. en
		<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>
PSE-2	rara	Enterobacterias	hidroliza muy rá
		<i>P. aeruginosa</i>	pido la oxacilina
PSE-3	rara	Enterobacterias	
		<i>P. aeruginosa</i>	
PSE-4 (CARB-1)	rara	<i>P. aeruginosa</i>	
CARB-3	rara	<i>P. aeruginosa</i>	
CARB-4	rara	<i>P. aeruginosa</i>	res. a cefsulodina
		Enterobacterias	
BRO-1	frecuente	Moraxella	
		Bramhamella	
N-3	rara	<i>P. mirabilis</i>	Parecida a CARB-2
N-29	rara	<i>P. mirabilis</i>	

Cefalosporinasas

CEP-1	rara	<i>P. mirabilis</i>
CEP-2	rara	<i>Achromobacter</i>

Espectro ampliado

RHH-1	rara	Enterobacterias	
CAZ-1	frec(Francia)	Enterobacterias	Deriva de TEM-2
CAZ	rara(Alemania)	Enterobacterias	Deriva de TEM-2
CTX-1	frec(Francia)	Enterobacterias	Deriva de TEM-2
SHV-2	rara(Francia, Alemania, Chile, Grecia, China)	Enterobacterias	Deriva de SHV-1

Betalactamasas codificadas en los cromosomas

Casi todos los bacilos gram-negativos producen betalactamasas codificadas cromosómicamente. A veces cada especie, incluso subespecie, produce una betalactamasa específica lo que permite clasificar los bacilos gram negativos según la forma de producción de las beta-lactamasas (Tabla 3).

Tabla 3. Expresión de las beta-lactamasas cromosómicas y especies que las representan.

I Beta-lactamasas constitutivas y poco activas

E. coli

P. mirabilis

Salmonella spp

Shigella spp

II Beta-lactamasas constitutivas y relativamente activas

Klebsiella spp

III Beta-lactamasas inducibles y muy activas

Enterobacter spp

Serratia spp

Citrobacter freundii

Proteus vulgaris

Morganella morganii

Providencia spp

Pseudomonas aeruginosa

Acinetobacter spp

Estas beta-lactamasas suelen tener poca actividad en los dos primeros grupos. Sin embargo esta actividad se puede incrementar por inducción o alteración de los genes del cromosoma. La mayoría de las beta-lactamasas codificadas cromosómicamente hidrolizan cefalosporinas incluidas las de la tercera generación. Estas enzimas generalmente son bioquímicamente diferentes a las codificadas plásmidicamente, sin embargo la enzima cromosómica de *K. pneumoniae* es indistinguible de la SHV-1. Se piensa que los genes de esta enzima primero se codificaban en el cromosoma y luego se incorporaron al plásmido. No se ha encontrado el antecesor cromosómico de la TEM-1 que es mucho más frecuente.

Beta-lactamasas inducibles.

Algunos bacilos gram negativos son capaces de producir resistencia durante el tratamiento mediante la producción de beta-lactamasas inducibles. Este carácter inducible significa que los bacilos sintetizan una pequeña cantidad de beta-lactamasa en ausencia de antibiótico pero que en presencia de éste la síntesis aumenta notablemente. Este aumento cesa cuando se retira el antibiótico. Por mutación, esta clase de bacilos pueden producir gran cantidad de enzima en ausencia del antibiótico y se denominan establemente desreprimidos.

Las especies con mayor importancia clínica que producen beta-lactamasas de carácter inducible son *Enterobacter* ssp, *Serratia* ssp. , *Citrobacter freundii*, *Proteus* indol positivo, *Providencia* ssp *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* (Sanders, 1987).

Estas enzimas de la clase I en la clasificación de Richmond y Sykes, son capaces de hidrolizar penicilinas (excepto carboxipenicilinas) y cefalosporinas de primera generación.

Aunque en un primer momento se pensó que las cefalosporinas de segunda y tercera generación, las ureidopenicilinas, y los monobactámicos eran estables, en los últimos años se ha comprobado que también existen resistencias mediadas por estas enzimas (Sanders, 1983).

Además de existir bacilos con una síntesis inducible de estas enzimas, pueden aparecer cepas con una producción permanente. La desrepresión estable de las beta-lactamasas de la clase I es, habitualmente, confundida con la inducción pero son fenómenos diferentes (Phillips, 1986). Tal como se ha comentado, la inducción es una respuesta transitoria fenotípica ante un beta-lactámico. Por el contrario, la desrepresión estable es la hiperproducción permanente de enzima, con independencia de la presencia del antibiótico. La desrepresión puede ser parcial, de manera que el microorganismo produce un nivel inusualmente elevado y no inducido de la enzima pero mantiene la capacidad de inducción, o puede ser total, de tal forma que la expresión de la beta-lactamasa es constitutiva (es decir independiente de la presencia del antibiótico)(Livermore, 1987). La desrepresión estable de los mutantes tiene lugar con frecuencias que oscilan entre 1/100. 000 y 1/100. 000. 000 en las poblaciones con beta-lactamasas inducibles (Widemann, 1986). Mutantes hiperproductoras de beta-lactamasa también tienen lugar en especies en las que se produce la beta-lactamasa de la clase I de forma basal (p. ej. *E. coli*) pero la frecuencia es 100. 000. 000 veces inferior a la anterior (Lindberg, 1986).

Betalactamasas plasmídicas

Las betalactamasas plasmídicas se producen de forma constitutiva y en general, la cantidad elaborada es mayor que las cromosómicas (Medeiros, 1984). Pertenecen a la clase III y V de la clasificación de Richmond y Sykes y en los bacilos gram negativos el 15% de las beta-lactamasas plasmídicas pertenecen a la clase V y el resto a la clase III. Existe una clasificación de estas enzimas atendiendo al espectro antibiótico (Mayer y cols, 1990). Las penicilinasas de amplio espectro hidrolizan benzilpenicilina y cefaloridina, las oxacilinasas hidrolizan la oxacilina rápidamente, las carbenicilinasas actúan sobre la carbenicilina y las cefalosporinasas inactivan cefalosporinas preferentemente (Tabla 2).

Debido a la existencia de estas betalactamasas, la industria farmacéutica desarrolló nuevos fármacos que no se destruyeran por estas enzimas. Como fruto de esta investigación, aparecieron las

cefalosporinas de tercera generación que comenzaron a utilizarse en Europa en 1978 y en América del Norte en 1981. Pues bien, en 1983, en Alemania, aparecieron cepas de *Klebsiella pneumoniae* y de otras Enterobacterias con una beta-lactamasa codificada en un plásmido que era capaz de hidrolizar a la cefotaxima y a otras cefalosporinas nuevas (Knothe, 1983). Estas beta-lactamasas nuevas se denominaron SHV-2 que resultaron ser una mutación de la SHV-1 ampliamente distribuida en *Klebsiella*. Esta mutación aumentaba la afinidad de la SHV-1 por la cefotaxima. Más recientemente se ha descrito en *Klebsiella pneumoniae* otra beta-lactamasa codificada plasmídicamente y que también confiere resistencia a la cefotaxima. Es una enzima parecida a la TEM y se ha denominado CTX-1. Se ha descrito en varios hospitales de Francia (Sirot y cols. , 1987).

En 1987 se describieron tres beta-lactamasas codificadas por plásmidos que conferían resistencia a ceftazidima y aztreonam. Estas beta-lactamasas derivaban de la TEM-2 (Sirot y cols, 1987; Petit, 1988). Todas estas nuevas beta-lactamasas que derivan de una mutación de las beta-lactamasas ya conocidas y que confieren una resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, se conocen como beta-lactamasas de espectro ampliado (BEA).

Estas enzimas se inhiben por el ácido clavulánico y en general, confieren un nivel de resistencia que a veces no es detectado con los métodos de rutina (Philippon, 1989), pero si por el simple procedimiento descrito por Jarlier y cols. en 1988.

Contribución de las betalactamasas a la resistencia a los antibióticos betalactámicos.

El nivel de resistencia a un antibiótico depende de varios factores. La capacidad de hidrólisis de una betalactamasa depende del grado de hidrólisis (V_{max}), y de su afinidad por el antibiótico (K_m). Otras variables son la cantidad de enzima producida, la susceptibilidad de las PBP por el antibiótico y el grado de penetrabilidad del antibiótico al espacio periplásmico.

Las betalactamasas contribuyen a la resistencia antimicrobiana de diferentes formas. La más sencilla se encuentra en los estafilococos y consiste simplemente en la producción extracelular de betalactamasa. En este momento se producen dos fenómenos, la lisis de las bacterias por la penicilina, y la hidrólisis del antibiótico por la enzima. Si se llega a niveles de penicilina por debajo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y bacterias viables, estas se podrán reproducir. El mismo ejemplo se produce en los gram negativos pero la acción discurre en el espacio periplásmico donde se encuentra la betalactamasa "encerrada" y no existen restricciones a la entrada del antibiótico. En ambos ejemplos, la cantidad de inóculo es fundamental para el resultado letal o no de las bacterias. La CMI para un inóculo elevado (1. 000. 000 organismos/ml), será 1000 veces mayor que para un inóculo pequeño (100 organismos/ml). Así una dosis de ampicilina puede ser letal para una cepa de *H. influenzae* productora de betalactamasa contra la ampicilina si las bacterias productoras de la infección se encuentran en poca cantidad.

Otro ejemplo está representado por *E. coli* productor de TEM-1 y resistente a ampicilina. En este caso, la membrana externa de la bacteria actúa como barrera a la entrada del antibiótico. La betalactamasa se encuentra en el espacio periplásmico entre la membrana externa y la diana del antibiótico (PBP). Como consecuencia de todo esto, la poca cantidad de antibiótico que pueda penetrar, es rápidamente destruida por la enzima. En este caso la cinética es más complicada y un número pequeño de bacterias pueden provocar una infección grave.

Existe una variación de este modelo cuando la cantidad de betalactamasa se incrementa ante la presencia de un betalactámico (inducción). Esto ocurre con las cepas citadas (Tabla 3). En este modelo, la cantidad de betalactamasa tarda en aparecer y la resistencia también. Cuando estas cepas se exponen a la presencia de dos betalactámicos uno de los cuales es un buen inductor (cefamandol o imipenem), puede aparecer un antagonismo entre ambos antibióticos (p. ej imipenem-ceftazidima).

Disminución de la permeabilidad de la pared

Para llegar a los puntos diana de la membrana interna, los betalactámicos primero deben atravesar la membrana externa. La composición de esta membrana dificulta la entrada de moléculas hidrofílicas como los betalactámicos. Sin embargo, los beta lactámicos pueden penetrar a través de unos canales formados por las proteínas denominadas porinas. La posibilidad de penetración depende del carácter hidrofílico, de la carga eléctrica y de la permeabilidad de las porinas propia de cada especie. Por ejemplo, comparado con las Enterobacterias, la gran susceptibilidad de *Haemophilus influenzae* o la gran resistencia de *P. aeruginosa* para la mayoría de los betalactámicos se debe en parte a la permeabilidad de la barrera.

Para comprender como los bacilos gram negativos evitan el efecto letal de los betalactámicos estables a las betalactamasas, hay que tener en cuenta la actividad de la betalactamasa junto a la permeabilidad de la pared. Si el betalactámico penetra en un número suficiente y no se hidroliza todo, la bacteria muere; si por el contrario penetra poco y se hidroliza todo, aparece la resistencia (Pechère, 1988). Está comprobado que la alteración de la pared es un factor que contribuye a la resistencia a los betalactámicos. Puede actuar como factor único (Bush, 1985) o como adyuvante (Werner, 1985). Existen ejemplos en los que se conoce la contribución de cada uno de estos factores a la resistencia (Marchau, 1987). En el modelo experimental de este autor, la producción de beta lactamasa era responsable de un incremento de la CMI en unas 15-200 veces, y la impermeabilidad de la pared de 3 a 5 veces.

Es muy importante la impermeabilidad de la pared para producir resistencia cruzada a varios antibióticos sin relación entre sí, como cloranfenicol, tetraciclinas, trimetoprim, quinolonas y aminoglicósidos (Werner, 1985).

Modificación de las proteínas fijadoras de la penicilina

El efecto bactericida de los betalactámicos se ejerce en las proteínas fijadoras de penicilinas (PBP) situadas en la membrana citoplasmática. La disminución de la afinidad de las PBPs por los betalactámicos es un factor responsable de la resistencia en gram positivos (Pechère, 1988). En la actualidad se conocen pocos ejemplos de esta resistencia en los gram negativos. Se conoce el caso de una cepa de *P. aeruginosa* en la que apareció resistencia a la penicilina por disminución de afinidad de su PBP3 (Godfrey, 1981) y más recientemente otra *P. aeruginosa* se hizo resistente al imipenem durante el tratamiento por alteración de la PBP2 (Pechère, 1988). En el futuro el desarrollo de antibióticos que penetren mejor la pared y sean más estables a las betalactamasas pueden seleccionar bacterias con este mecanismo de resistencia (Pechère, 1988).

TOLERANCIA

Aunque su significado clínico no está muy claro podrían decirse dos palabras. Cuando los antibióticos betalactámicos se unen a las PBPs, inactivan a unos inhibidores endógenos de las autolisinas bacterianas, las cuales originan la muerte celular. Algunos microorganismos, que carecen de autolisinas, pueden ser inhibidos por los antibióticos betalactámicos, pero no son matadas a concentraciones cercanas a la CMI. Ese fenómeno se conoce como tolerancia y se ha descrito Neumococo, *S. aureus*, etc.

Significado clínico de la resistencia a betalactámicos

Al igual que en el resto de los grupos de antimicrobianos existe una gran diferencia en el porcentaje de resistencias entre los diferentes países y antibióticos (Tabla 6). Esta diferencia es más notable en las penicilinas ya que el número de antibióticos betalactámicos es mayor y además, existen nuevos antibióticos para los que la resistencia es aun muy baja. En general la resistencia a ampicilina es superior al 80% en las enterobacterias excepto en *E. coli*, *P. mirabilis*, y *Salmonella* spp. La resistencia a amoxicilina-clavulánico no es superior al 30% excluyendo *E. cloacae* y *C. freundii* (79 y 57% respectivamente), *Serratia* spp (87%), *M. morganii* (100%) y *Providencia* spp (73%) (Phillips, 1990). En Nigeria el 50% de *Proteus* spp es resistente a esta combinación.

Con respecto a la cefuroxima destaca la baja sensibilidad de *E. coli* (12% de resistentes) y *Klebsiella* spp (15% de resistentes) con respecto al resto de las enterobacterias en las que la resistencia es superior al 36% (Tabla 6).

La resistencia a cefotaxima es baja. Es notable sin embargo, la resistencia de las cepas españolas (Dámaso, 1985) con respecto al resto de países.

Los niveles de resistencia a ceftazidima son despreciables a excepción de las cepas que producen betalactamasas cromosómicas tipo I. Lo mismo ocurre con el aztreonam (Tabla 6).

La resistencia a imipenem es menor al 6% en todas las cepas revisadas (Tabla 6).

Propagación de las resistencias.

Existe una alta probabilidad de que una betalactamasa codificada en un plásmido o en un trasposón de una especie bacteriana, se "propague" a otras bacterias de la misma especie o de especies afines. Un claro ejemplo de lo expuesto, fue la propagación de la TEM-1 desde las Enterobacterias

a *Haemophilus influenzae* (Medeiros y O'Brien, 1975) y a *N. gonorrhoeae* (Elwell y cols. , 1977). Es conocida la facilidad de los BG- para diseminarse entre los enfermos a través de las manos del personal sanitario. Existen numerosas epidemias asociadas a catéteres, sondas y el agua. Por todo ello hay que extremar las medidas sanitarias en Unidades de cuidados intensivos, de quemados, centros de parapléjicos etc.

RESISTENCIA A AMINOGLUCOSIDOS

La resistencia de las bacterias aerobias a los aminoglucósidos se basa, por lo general, en enzimas modificantes de la estructura química de éstos. Pueden ser codificadas cromosómicamente, plasmídicamente o por trasposones. Se han descrito más de dos docenas de enzimas que llevan a cabo una de las tres reacciones siguientes: N-acetilación, O-adenilación, O-fosforilación (Tabla 4). Los enzimas acetilantes catalizan la transferencia de acetato de la acetil-coenzima A a un grupo amino del antibiótico. La acetilación puede producirse en grupos amino distintos situados en posición 1, 3, 2' y 6'. Tendremos así los tipos de acetil-transferasas AAC(1), AAC(3), AAC(2') y AAC(6'). De estas acetilasas se han descrito numerosas isoenzimas. Existen dos isoenzimas de AAC(2'), cinco de AAC(3) y doce de AAC(6') (Gómez Lus, 1989). El mecanismo de la nucleotilación consiste en utilizar un nucleótido (generalmente ATP) y modificar los hidroxilos de los aminoglucósidos. El más frecuente de este grupo es el ANT(2"). El tercer mecanismo de resistencia es la O-fosforilación que consiste en la transferencia de un grupo fosforilo a un hidroxilo diana. Pueden utilizar como cofactores los nucleótidos ATP, CTP, GTP, o UTP.

Algunas enzimas pueden modificar los aminoglicósidos en dos posiciones diferentes con un mecanismo idéntico. Un ejemplo es la fosfotranferasa APH(3')(5") con la neomicina o la nucleotidilasa ANT(4')(4") que modifica los hidroxilos en posición 4' y 4" de kanamicina A, tobramicina y dibekacina (Gómez Lus, 1989). La enzima bifuncional APH(2")-ACC(6') es capaz de fosforilar en 2"-O y de acetilar en 6'-N (Ubukata, 1984).

Desde el punto de vista clínico los aminoglucósidos han sido de gran utilidad desde la introducción de la estreptomina en 1940. Sin embargo, su toxicidad y la aparición de resistencias han limitado su uso. Esta resistencia, como se ha citado anteriormente, se debe a alteraciones en la permeabilidad de la pared bacteriana, cambios en el ribosoma o modificaciones enzimáticas del sustrato. A excepción de las *P. aeruginosa*, el resto de los bacilos gram negativos resistentes a los aminoglucósidos con significación clínica, poseen mecanismos enzimáticos de resistencia codificados por plásmidos, trasposones o cromosomas. El mecanismo de resistencia en *P. aeruginosa* no suele estar mediado por mecanismos enzimáticos y se deben a impermeabilidad de la pared.

Al igual que en otros antibióticos los porcentajes de resistencia varían mucho de unos países a otros (Tabla 6), incluso entre hospitales del mismo país (Acar, 1977; Shimizu, 1985). Desde la introducción para uso clínico de la gentamicina en 1969 y de la tobramicina en 1976, las resistencias fueron crecientes en los primeros años de su utilización (Cross, 1983; Weinstein, 1980). Sin embargo y a diferencia del resto de los antibióticos, existe una tendencia generalizada al estancamiento en un determinado porcentaje (Young, 1986) o incluso a descender (Betts, 1984).

Tabla 4. Enzimas más frecuentes que modifican a los aminoglicósidos

Enzima	Substrato	Género
Fosforilación		
APH(2")	Kana, Genta, Tobra	SA, SR
APH(3')-I	Kana	E, PS, SA, SR.
APH(3')-III	Kana, Amika	E, PS, SA, SR.
Acetilación		
AAC(2')	Genta	PR
AAC(3)-I	Tobra, Genta	E, PS
AAC(3)-III, IV 6 V	Kana, Tobra, Genta	E, PS
AAC(6')	Kana, Tobra, Amika	E, PS, SA
Adenilación		
ANT(2")	Kana, Tobra, Genta	E, PS
ANT(4')	Kana, Tobra, Amika	SA

Abreviaturas. - Amika, Amicacina; Genta, Gentamicina; Kana, Kanamicina; Tobra, Tobramicina. E, Enterobacterias; PR, Providencia, Proteus; PS, Pseudomonas; SA, Estafilococo, SR, Estreptococo.

RESISTENCIA A SULFONAMIDAS Y TRIMETOPRIM

La combinación trimetoprim-sulfametoxazol comenzó a utilizarse en Inglaterra en 1969, en España en 1970 y en Francia en 1971. En el hospital St. Joseph de este último país, la resistencia al trimetoprim ascendió del 17.9% al 24.8% en el período 1972-1979 (Acar, 1982). En el período 1977-1979 esta resistencia ascendió del 11 al 15% en un hospital de Londres (Datta, 1980). En Nottingham esta resistencia era sólo del 5% en 1979 (Towner, 1980).

Con el fin de evitar este rápido aumento de resistencias al cotrimoxazol se comenzó a utilizar trimetoprim solo. En 1973 Finlandia fue el primer país en comenzar esta monoterapia (Heikkila, 1990). Posteriormente y ante los altos porcentajes de resistencia al cotrimoxazol alcanzados en los países en desarrollo (Murray, 1985), también comenzó a utilizarse esta monoterapia (Urbina, 1989).

La resistencia a las sulfonamidas está mediada por la producción de dihidropteroato sintetasa resistente a la unión de sulfonamidas. Existe una gran prevalencia de esta resistencia entre los bacilos gram negativos y está codificada por plásmidos. La forma más corriente de resistencia al trimetoprim está mediada por la síntesis de una dehidrofolato reductasa (DHFR) resistente a la unión con el antibiótico. Esta resistencia se puede codificar en un plásmido o en un trasposón (Tabla 5). Se han descrito numerosos plásmidos que codifican DHFRs (Amyes, 1989) la mayoría de los cuales se encuentran en las enterobacterias. A excepción de las tipo III y IV, el resto de las DHFRs confieren altos niveles de resistencia al trimetoprim ($\text{CMI} > 1024 \text{mg/l}$). El tipo I es universal y es la que con mayor frecuencia confiere resistencia en las enterobacterias. Tiene dos subtipos a y b. La DHFR tipo Ia es la más frecuente de todas y está codificada por el trasposón Tn7. Este trasposón es muy móvil y "promiscuo" y puede transferirse de las enterobacterias a otras especies. Así, en Tanzania, se ha publicado una migración de un trasposón a un *Vibrio cholerae* (Amyes, 1986). El tipo Ib sólo se ha descrito en el Reino Unido. El tipo II es menos frecuente en Europa que en América y tiene tres subtipos, a, b, c. La DHFR tipo III solo se ha descrito en una *Salmonella typhimurium* de Nueva Zelanda. El tipo IV es inducible y se ha encontrado en el sur de la India (Young y Amyes, 1986).

El tipo V era hasta hace poco exclusiva de Sri Lanka pero muy recientemente se ha descrito en el Reino Unido (Towner, 1990) y en Finlandia (Heikkilan, 1990). El tipo VI es la de menor peso molecular y la que confiere junto a la DHFR II la mayor resistencia. Recientemente se ha descrito un nuevo tipo en animales de Inglaterra. Es la DHFR tipo VII (Amyes y cols, 1989).

Tabla 5. Enzimas descritas que confieren resistencia al trimetoprim

Tipo	Codificado	Resist. otros atb	Países
Ia	Tn7	estreptomicina	universal
Ib	Tn4132		GB
IIa	plásmido		N. Europa, USA
IIb	Tn402		
IIc	plásmido		
III	plásmido		Nueva Zelanda
IV	plásmido		India
V	plásmido	ampicilina	Sri Lanka, GB, Fin.
VI	plásmido		Suráfrica
VII	plásmido		GB

Dada la importancia de *E. coli* en las infecciones urinarias y del cotrimoxazol en su tratamiento, vamos a hacer una brevísima revisión de la situación actual de las resistencias a este antibiótico en esta especie.

Las cifras de resistencia al cotrimoxazol varían notablemente de unos países a otros (Tabla 6). La resistencia al cotrimoxazol estaba comprendida en 1983 entre el 4 y 10% en Estados Unidos, Inglaterra o Finlandia, (Murray y cols, 1985) y en los países en desarrollo la cifra era mucho más elevada. En Chile el porcentaje de resistencia de *E. coli* era del 44% en 1983 y del 40% en Tailandia en 1984. En Honduras era del 38% en 1983 y en Costa Rica ascendió del 25% al 48% en un año (Murray y cols, 1985). En este mismo período la resistencia en el Norte de Europa era del 10% y en 1988 la resistencia había bajado algo en Chile (37%) y se mostraba altísima en un hospital de Nigeria (85% en 1988).

Vemos pues que las discrepancias son enormes entre los países en desarrollo y en los países industrializados.

RESISTENCIA A QUINOLONAS

Existen dos mecanismos diferentes en cuanto a la resistencia a las quinolonas. Ambos están codificados cromosómicamente y hasta la fecha, solo existe un caso descrito de resistencia plasmídica (Munshi y cols. , 1986).

El primero de los mecanismos de resistencia afecta solo a las quinolonas y se debe a la modificación del enzima diana. La ADN girasa es esencial para el enrollamiento del ADN cromosómico en el momento de la división bacteriana. Esta enzima tiene dos subunidades A codificadas por el gen *gyr A* y dos subunidades B codificadas por el gen *gyr B*. La mutación en cualquiera de estos genes puede conferir resistencia al ácido nalidíxico y las nuevas fluoroquinolonas en las Enterobacterias y en *P. aeruginosa*.

El segundo de los mecanismos afecta a la permeabilidad de la pared y puede conllevar resistencia cruzada a otros antimicrobianos.

En general los porcentajes de resistencia son muy bajos para este grupo de antibióticos y existen diferencias entre los primeros compuestos (ácido nalidíxico) y los más modernos (ciprofloxacino). En la tabla 6 figuran las resistencias recogidas en los últimos años. Los porcentajes de resistencia para el ácido nalidíxico no superan el 7% y para el ciprofloxacino solo se describen resistencias en *Klebsiella* spp (2% en Nigeria) y en *Pseudomonas aeruginosa* (1% en Centro Europa).

CEPAS MULTIRRESISTENTES

El mayor problema que nos encontramos a la hora de buscar cepas resistentes es que no existe un consenso general acerca de la definición de multirresistencia (McGowan, 1983). En general, se aceptan tres conceptos. La primera definición abarca a aquellos microorganismos que son resistentes a un número determinado de antimicrobianos especificados en material y métodos. No obstante en la mayoría de los trabajos no se especifica el término de multirresistencia. Una segunda definición es acerca de aquellos microorganismos que son resistentes a los fármacos utilizados "habitualmente". La tercera definición abarca a aquellas bacterias resistentes a dos o más fármacos a los que la bacteria es "susceptible frecuentemente".

El problema de todas estas definiciones es que son muy subjetivos los términos utilizados y varían de hospital a hospital y de investigador a investigador (McGowan, 1983). Además muchos de estos criterios varían con el tiempo. Así una enterobacteria resistente a la ampicilina era una novedad en la década de los 60 y hoy es prácticamente la norma.

Por todos los motivos expuestos nosotros definiremos la multirresistencia en material y métodos y de acuerdo a esta definición estudiaremos las cepas multirresistentes.

Tabla 6. Porcentajes de resistencia de las distintas especies recogidos en la bibliografía en los últimos años.

Especie	Ant.	n°	res	Año	País	Técnica	Referencia
BF	CFU	50	38%	1989	USA	DA	Sanders
BF	CAZ	1334	4%	1988	C. Europa	DA	Kresken
BF	GEN	1334	1%	1988	C. Europa	DA	Kresken
BF	CIP	1334	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
<u>E. coli</u>							
	AMP	834	22%	1984	N. Europa	DA	Kresken
	AMP	220	73%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
	ACL	-	30%	1985	España	-	Baquero
	ACL	15	0%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
	ACL	-	25%	1989	GB	DA	Phillips
	CFU	-	12	1989	GB	DA	Phillips
	CTX	834	0%	1983	N. Europa	DA	Kresken
	CTX	1018	2%	1985	España	DA R>16mg/l	Dámaso
	CTX	635	2%	1986	Venezuela	D/P R<23mm	Murillo
	CTX	8	0%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
	CTX	431	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
	AZT	209	0%	1985	Canada	DA	Henry
	IMP	325	<1%	1983	N. Europa	DA	Kresken
	GEN	5188	1%	1980	Suiza	D/P sd	Pitton
	GEN	-	1%	1981	USA	-	Mayer
	GEN	834	1%	1984	N. Europa	DA	Kresken
	GEN	90	0%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
	GEN	431	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
	TOB	-	1%	1981	USA	-	Mayer
	TOB	834	1%	1984	N. Europa	DA	Kresken
	NAL	834	2%	1984	N. Europa	DA	Kresken
	NAL	107	6%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
	CIP	44	0%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
	CIP	431	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
	SFX	834	10%	1984	N. Europa	DA	Kresken
	SFX	150	37%	1988	Chile	DA R>8/156	Urbina
	SFX	190	85%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore

Tabla 6 (continuación)

P. mirabilis

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	345	13%	1984	N. Europa	DA	Kresken
AMP	87	29%	1985	Canada	DA	Henry
ACL	-	6%	1988	GB	DA	Phillips
CTX	345	0%	1983	N. Europa	DA	Kresken
CTX	303	48%	1985	España	DA	Damaso
CTX	107	0%	1986	Venezuela	D/P	Murillo
CAZ	236	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
AZT	87	0%	1985	Canada	DA	Henry
IMP	231	5%	1983	N. Europa	DA	Kresken
GEN	112	16%	1980	Francia	D/P	Witchitz
GEN	224	4%	1980	Suiza	D/P	Pitton
GEN	345	6%	1984	N. Europa	DA	Kresken
GEN	236	2%	1988	C. Europa	DA	Kresken
TOB	345	2%	1984	N. Europa	DA	Kresken
NAL	345	3%	1984	N. Europa	DA	Kresken
NAL	87	1%	1985	Canada	DA	Henry
CIP	236	0%	1988	N. Europa	DA	Kresken
SFX	345	10%	1984	N. Europa	DA	Kresken
SFX	87	14%	1985	Canada	DA	Henry

Tabla 6 (continuación)

P. vulgaris

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	178	94%	1984	N. Europa	DA	Kresken
ACL	17	0%	1988	GB	DA	Phillips
CFU	17	94%	1988	GB	DA	Phillips
CTX			1983	N. Europa	DA	Kresken
CTX	122	40%	1985	España	DA R>16mg/l	Damaso
CAZ	17	0%	1988	GB	DA	Phillips
IMP			1983	N. Europa	DA	Kresken
GEN	919	1%	1980	Suiza	D/P sd	Pitton
GEN	49	6%	1984	N. Europa	DA	Kresken
TOB	49	2%	1984	N. Europa	DA	Kresken
NAL	49	5%	1984	N. Europa	DA	Kresken
SFX	49	7%	1984	N. Europa	DA	Kresken

Tabla 6 (continuación)

Proteus ssp

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	120	80%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
ACL	8	50%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
CTX	20	25%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
CAZ	91	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
GEN	20	70%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
GEN	91	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
NAL	52	6%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
CIP	16	0%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
CIP	91	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
SXT	94	75%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore

Tabla 6 (continuación)

Klebsiella pneumoniae

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	L	95%	1982	USA	D/P sd	Atkinson
CTX	123	3%	1986	Venezuela	D/P R<23mm	Murillo
AZT	33	0%	1985	Canada	DA	Henry
IMP	33	0%	1985	Canada	DA	Henry
GEN	882	3%	1980	Suiza	D/P sd	Pitton
GEN	-	10%	1981	USA	-	Meyer
GEN	33	0%	1985	Canada	DA	Henry
TOB	-	8%	1981	USA	-	Meyer
SXT	150	62%	1988	Chile	DA R>8/156	Urbina
SXT	33	7%	1985	Canada	DA	Henry
NAL	33	0%	1985	Canada	DA	Henry

Tabla 6 (continuación)

Klebsiella spp

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	411	99%	1984	N. Europa	DA	Kresken
AMP	230	86%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
ACL	15	10%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
ACL	-	6%	1989	GB	DA	Phillips
CFU	-	15%	1989	GB	DA	Phillips
CTX	164	2%	1985	España	DA R>16mg/l	Damaso
CTX	10	100%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
CTX	411	1%	1983	N. Europa	DA	Kresken
CAZ	280	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
IMP	295	1%	1983	N. Europa	DA	Kresken
IMP	33	0%	1985	Canada	DA	Henry
GEN	1092	10%	1979	USA	D/P sd	Mary
GEN	411	5%	1984	N. Europa	DA	Kresken
GEN	17	6%	1985	Canada	Da	Henry
GEN	96	80%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
GEN	280	1%	1988	C. Europa	DA	Kresken
TOB	1092	16%	1979	USA	D/P sd	Mary
TOB	411	4%	1984	N. Europa	DA	Kresken
SFX	411	12%	1984	N. Europa	DA	Kresken
SFX	17	12%	1985	Canada	DA	Henry
NAL	411	8%	1984	N. Europa	DA	Kresken
NAL	101	3%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
CIP	46	2%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore
CIP	280	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
SXT	211	99%	1988	Nigeria	D/P sd	Montefiore

Tabla 6 (continuación)

Salmonella spp

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	49	6%	1984	N. Europa	DA	Kresken
CTX	49	0%	1983	N. Europa	DA	Kresken
CTX	28	7%	1985	España	DA R>16mg/l	Damaso
CAZ	59	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
IMP	43	2%	1983	N. Europa	DA	Kresken
GEN	49	0%	1984	N. Europa	DA	Kresken
GEN	59	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
TOB	49	0%	1984	N. Europa	DA	Kresken
NAL	49	0%	1984	N. Europa	DA	Kresken
CIP	59	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
SFX	49	0%	1984	N. Europa	DA	Kresken

Tabla 6 (continuación)

Enterobacter cloacae

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
ACL	53	79%	1988	GB	DA	Phillips
CFU	53	83%	1988	GB	DA	Phillips
CTX	126	19%	1986	Venezuela	D/P sd	Murillo
CAZ	53	9%	1988	GB	DA	Phillips
GEN	-	32%	1981	USA	-	Meyer
TOB	-	35%	1981	USA	-	Meyer

Enterobacter aerogenes

ACL	8	100%	1988	GB	DA	Phillips
CFU	8	37%	1988	GB	DA	Phillips
CTX	32	9%	1986	Venezuela	D/P sd	Murillo
CAZ	8	37%	1988	GB	DA	Phillips

Tabla 6 (continuación)

Enterobacter spp

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	236	94%	1984	N. Europa	DA	Kresken
CTX	236	18%	1983	N. Europa	DA	Kresken
CTX	54	33%	1985	España	DA R>16mg/l	Damaso
CAZ	164	21%	1988	C. Europa	DA	Kresken
AZT	60	11%	1985	Canada	DA	Henry
IMP	196	2%	1983	N. Europa	DA	Kresken
IMP	60	0%	1985	Canada	DA	Henry
GEN	236	2%	1984	N. Europa	DA	Kresken
GEN	164	2%	1988	C. Europa	DA	Kresken
GEN	60	11%	1985	Canada	DA	Henry
TOB	236	1%	1984	N. Europa	DA	Kresken
NAL	236	2%	1984	N. Europa	DA	Kresken
NAL	60	5%	1985	Canada	DA	Henry
CIP	164	0%	1988	N. Europa	DA	Kresken
SFX	236	4%	1984	N. Europa	DA	Kresken
SFX	60	14	1985	Canada	DA	Henry

Tabla 6 (continuación)

Citrobacter freundii

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
ACL	14	57%	1988	GB	DA	Phillips
CFU	14	50%	1988	GB	DA	Phillips
CTX	53	8%	1986	Venezuela	D/P sd	Murillo
CTX	46	15%	1985	España	DA R>16mg/1	Damaso
CAZ	14	28%	1988	GB	DA	Phillips

Citrobacter diversus

CTX	11	1%	1986	Venezuela	D/P sd	Murillo
-----	----	----	------	-----------	--------	---------

Citrobacter spp

AMP	66	91%	1984	N. Europa	DA	Kresken
CTX	66	9%	1983	N. Europa	DA	Kresken
CAZ	40	17%	1988	C. Europa	DA	Kresken
AZT	60	15%	1985	Canada	DA	Henry
IMP	64	0%	1983	N. Europa	DA	Kresken
IMP	60	0%	1985	Canada	DA	Henry
GEN	66	2%	1984	N. Europa	DA	Kresken
GEN	15	11%	1985	Canada	DA	Henry
GEN	40	2%	1988	C. Europa	DA	Kresken
TOB	66	1%	1984	N. Europa	DA	Kresken
NAL	66	2%	1984	N. Europa	DA	Kresken
CIP	40	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken
SFX	66	6%	1984	N. Europa	DA	Kresken
SFX	15	20%	1985	Canada	DA	Henry

Tabla 6 (continuación)

Serratia marcescens

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	20	100%	1985	Canada	DA	Henry
CTX	17	0%	1986	Venezuela	D/P sd	Murillo
CTX	16	6%	1985	España	DA R>16mg/l	Damaso
AZT	20	3%	1985	Canada	DA	Henry
IMP	20	0%	1985	Canada	DA	Henry
GEN	224	5%	1979	USA	D/P sd	Mary
GEN	17	85%	1980	Francia	D/P R<13mm	Witchitz
GEN	44	32%	1980	Suiza	D/P sd	Pitton
GEN	-	17%	1981	USA	-	Meyer
GEN	20	20%	1985	Canada	DA	Henry
TOB	224	32%	1979	USA	D/P sd	Mary
TOB	17	85%	1980	Francia	D/P R<11mm	Witchitz
TOB	-	26%	1981	USA	-	Meyer
SXT	20	50%	1985	Canada	DA	Henry
NAL	20	5%	1985	Canada	DA	Henry

Tabla 6 (continuación)

Serratia spp

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	57	91%	1984	N. Europa	DA	Kresken
AMP	13	100%	1985	Canada	DA	Henry
ACL	16	87%	1988	GB	DA	Phillips
CFU	16	100%	1988	GB	DA	Phillips
CTX	57	4%	1983	N. Europa	DA	Kresken
CAZ	33	15%	1988	C. Europa	DA	Kresken
CAZ	16	0%	1988	GB	DA	Phillips
AZT	13	8%	1985	Canada	DA	Henry
IMP	84	2%	1983	N. Europa	DA	Kresken
IMP	13	0%	1985	Canada	DA	Henry
GEN	57	6%	1984	N. Europa	DA	Kresken
GEN	13	15%	1985	Canada	DA	Henry
GEN	33	9%	1988	C. Europa	DA	Kresken
TOB	57	21%	1984	N. Europa	DA	Kresken
SFX	57	14%	1984	N. Europa	DA	Kresken
SXT	13	46%	1985	Canada	DA	Henry
NAL	57	2%	1984	N. Europa	DA	Kresken
NAL	13	0%	1985	Canada	DA	Henry
CIP	33	0%	1988	C. Europa	DA	Kresken

Tabla 6 (continuación)

Morganella morganii

	Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
AMP	13	100%	1985	Canada	DA		Henry
ACL	26	100%	1988	GB	DA		Phillips
CFU	26	92%	1988	GB	DA		Phillips
CAZ	26	11%	1988	GB	DA		Phillips
CTX	158	17%	1985	España	DA	R>16mg/l	Damaso
AZT	13	4%	1985	Canada	DA		Henry
IMP	13	0%	1985	Canada	DA		Henry
GEN	13	0%	1985	Canada	DA		Henry
NAL	13	0%	1985	Canada	DA		Henry
SFX	13	13%	1985	Canada	DA		Henry

Providencia spp

ACL	11	73%	1988	GB	DA		Phillips
CFU	11	0%	1988	GB	DA		Phillips
CAZ	11	0%	1988	GB	DA		Phillips
GEN	224	40%	1979	USA	D/P	SD	Mary
TOB	224	33%	1979	USA	D/P	SD	Mary

Tabla 6 (continuación)

P. aeruginosa

	Ant. N	res	Año	País	Técnica	Refer
TIC	153	69%	1985	Canada	DA	Henry
CTX	263	80%	1986	Venezuela	D/P sd	Murillo
CTX	292	62%	1985	España	DA R>16mg/l	Damaso
CAZ	360	2%	1983	N. Europa	DA	Kresken
CAZ	286	4%	1988	C. Europa	DA	Kresken
AZT	153	35%	1985	Canada	DA	Henry
IPM	288	15%	1983	N. Europa	DA	Kresken
IMP	28	2%	1985	Canada	DA	Henry
GEN	1073	21%	1979	USA	D/P sd	Mary
GEN	648	20%	1980	Suiza	D/P	Pitton
GEN	N	21%	1982	USA	D/P sd	Atkinson
GEN	360	11%	1984	N. Europa	DA	Kresken
GEN	286	8%	1988	C. Europa	DA	Kresken
TOB	1073	21%	1979	USA	D/P sd	Mary
TOB	N	10%	1982	USA	D/P sd	Atkinson
TOB	360	5%	1984	N. Europa	DA	Kresken
TOB	153	11%	1985	Canada	DA	Henry
CIP	286	1%	1988	C. Europa	DA	Kresken

Tabla 6 (continuación)

Acinetobacter spp

Ant.	N	res	Año	País	Técnica	Refer
TIC	31	36%	1985	Canada	Da	Henry
CTX	42	60%	1985	España	DA R>16mg/l	Damaso
AZT	31	100%	1985	Canada	Da	Henry
IMP	15	0%	1985	Canada	Da	Henry
TOB	31	16%	1985	Canada	Da	Henry

Abreviaturas

DA dilución en agar. D/P disco-placa.

AMP, ampicilina. ACL amoxicilina-clavulánico. AZT aztreonam.
 BF enterobacterias. CAZ ceftazidima. CFU cefuroxima. CIP
 ciprofloxacina. CTX cefotaxima. GEN gentamicina. IMP imipenem.
 NAL ácido nalidíxico. TOB: tobramicina. SXT cotrimoxazol.

N=499. 667; L= 628. 855

MATERIAL Y METODOS

En el planteamiento inicial de un estudio como es éste, uno de los primeros problemas que surgen es que tanto la elección de los hospitales como la toma de muestras sea representativa de la realidad del país.

1.- Elección de hospitales participantes

Para la elección de los hospitales participantes contamos con los siguientes datos:

Número de habitantes por comunidad autónoma

Número de camas por comunidad autónoma

Número de hospitales por comunidad autónoma

Dado que la distribución de camas por comunidad puede no responder al número de habitantes, la distribución de nuestra muestra la hacemos en función del número de habitantes.

Se pone como condición que la comunidad de menor tamaño poblacional esté representada (La Rioja 260.024 hab). El menor número de camas que pueden elegirse en ella, dado que hay que tomarlas por bloques de hospitales, es de 185, lo que marca el número de cada comunidad estratificado en función del número de habitantes. Estas 185 camas de La Rioja representan al número de camas en total de esa comunidad, que son de 725 (o sea un 25%).

Como las camas se toman de acuerdo al tamaño de los hospitales, al final tendremos 51 hospitales de un total de 239 lo que supone, un 20% de los existentes en la población total (según los criterios de inclusión).

La representatividad a nivel de comunidad se garantiza al realizar un muestreo estratificado que tiene en cuenta el tamaño poblacional de cada comunidad y su configuración en cuanto a

hospitales de mayor y menor tamaño (Tabla 7 y Fig. 1). Así pues se incluyeron en el estudio 51 hospitales con laboratorio de microbiología dependientes de la red sanitaria del INSALUD o de las Comunidades Autónomas (Tabla 8).

HOSPITALES PARTICIPANTES NUMERO DE CAMAS

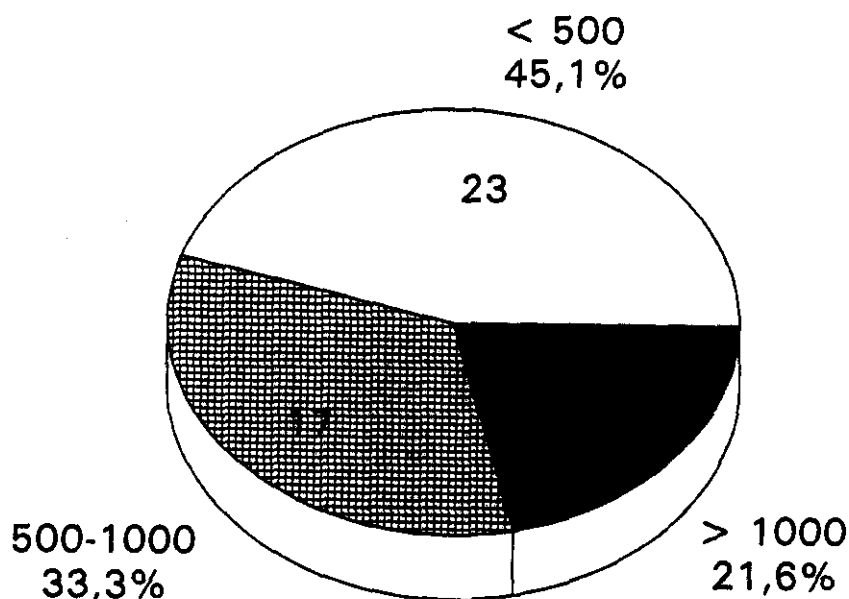


Fig.1. Proporción de hospitales participantes según el número de camas

Información y solicitud de consentimiento en cada hospital

Los laboratorios de microbiología fueron informados por escrito y telefónicamente de la mecánica del estudio y se solicitó su consentimiento. Para ello se envió una carta explicativa a cada laboratorio.

Una vez que se contó con la colaboración del laboratorio de microbiología se comunicó el día en que se recogerían los aislamientos y se entregarían los tubos de agar inclinado para subcultivar las bacterias.

2.- Recogida de cepas

La recogida de cepas se realizó según unas normas que se enviaron a cada laboratorio. En resumen, la elección de cepas que se incluyeron en el estudio se realizó según un sistema de corte en un día. Para ello se recogieron todas las cepas de bacilos Gram negativos identificadas en un día determinado en cada laboratorio.

Se entiende por cepas identificadas todas aquellas cuyo informe de género es definitivo en el día elegido. Ejemplo: *Salmonella*, *Klebsiella* etc.; salvo los bacilos Gram negativos no fermentadores que se enviaron sin identificación a nivel de género.

Las cepas de bacilos Gram negativos se sembraron en la superficie inclinada del agar de los tubos que se suministraron, con el fin de obtener un cultivo puro. Los tubos de agar se cerraron, se rotularon con el número de registro de cada laboratorio y se incubaron en aerobiosis a 35°C durante 24 horas para obtener crecimiento.

El agar inclinado tenía la siguiente composición:

Nutrient Broth (Difco)	8 gramos
Nutrient Agar (Difco) ..	11.5 gramos
Agua destilada	1000 c.c.

Se rellenó, por cada bacteria, una hoja de recogida de datos que se suministró junto con los tubos de agar inclinado (Hoja I).

El día siguiente, tras 24 horas de incubación se recogieron los tubos de agar inclinado y las hojas de recogida de datos.

Transporte

Se realizó utilizando un sistema de envío urgente en un recipiente hermético e irrompible. Las muestras se enviaron al Servicio de Microbiología del Hospital Clínico de Madrid, donde se hizo un subcultivo en agar MacConkey a partir del cual se realizó identificación y conservación de cada bacteria.

Por cada muestra se rellenó la hoja de identificación.

Conservación

La conservación de los aislados se hizo por duplicado en leche descremada a -70°C y mediante liofilización.

3.-Estudios de identificación

La identificación se realizó por medio de galería de reactivos comerciales de fiabilidad aceptada (Enterotube II, Sistema API 20E y API 20NE).

Sistema Enterotube.- El método Enterotube II (Roche), es un sistema cómodo y de probada eficacia (Ewing, 1973; Holmes, 1989) que permite la identificación de las enterobacterias mediante 18 pruebas bioquímicas.

Sistema Api 20E.- El sistema API 20E (BioMerieux) es un sistema que permite la identificación de Enterobacterias y otros Gram negativos mediante 23 pruebas bioquímicas.

Sistema Api 20NE.-Permite la identificación de los bacilos gram negativos no fermentadores de la glucosa.

Los resultados se anotaron en la hoja de identificación.

4.- Determinación de la sensibilidad a los antibióticos

Existen varias formas para conocer la sensibilidad de una bacteria a un antimicrobiano dado. La primera gran división que se puede hacer entre los métodos existentes, es según sean cuantitativos o cualitativos. Así, en la rutina de un hospital normalmente se emplea la técnica cualitativa de disco/placa. Es decir, se colocan discos con una concentración conocida de un antibiótico sobre unas placas con un inóculo del microorganismo. El antibiótico difunde desde el disco al agar e inhibe el crecimiento de las cepas sensibles. Esta es una técnica de muy fácil realización pero que sólo nos informa si una bacteria es sensible, resistente o moderadamente resistente a un antibiótico pero no nos puede informar si es "muy resistente" o "muy sensible". Para resolver este problema existen las técnicas cuantitativas de sensibilidad a los antibióticos. Estas técnicas son fundamentalmente dos:

dilución en caldo y dilución en agar. En ambas se preparan concentraciones cada vez mayores de un antibiótico desde p.ej 0.03 microg/ml hasta 64 microg/ml. Estas concentraciones del antibiótico se mezclan bien con el caldo o bien en agar. Tras sembrar los microorganismos que se van a estudiar y tras 24h de incubación, se observa el crecimiento o no de la bacteria. Aquella concentración de antibiótico que consigue inhibir el crecimiento bacteriano y por lo tanto no se ve la colonia en la placa de agar o no se ve turbidez en el caldo de cultivo, se denomina **CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI)**. Este valor expresado en microgramos por mililitro es la mínima concentración del antibiótico que consigue inhibir *in vitro* el crecimiento bacteriano.

Este valor de la CMI nos es muy útil para saber en que medida un microorganismo es sensible a un determinado antimicrobiano. Una vez conocida la CMI de una bacteria y por los estudios previos de la farmacocinética de un antibiótico, es posible hacer una extrapolación al comportamiento de la bacteria "in vivo". Es decir, si un microorganismo tiene una CMI de 1 $\mu\text{g/ml}$ y nosotros sabemos que este antibiótico siguiendo las dosis que determina el fabricante alcanza una concentración de 2 $\mu\text{g/ml}$ en los tejidos humanos, podremos afirmar que teóricamente este antibiótico podrá ejercer un efecto inhibitorio para el microorganismo *in vivo*. Sin embargo aunque la técnica de la CMI sea mejor que la prueba de difusión disco placa, no por eso deja de tener inconvenientes en su extrapolación al comportamiento *in vivo*. En primer lugar hay que conocer que la concentración del antibiótico en la técnica de la CMI es constante y sin embargo en el organismo esto es difícil de conseguir. El segundo problema es que no siempre el antibiótico difunde bien a los lugares de infección y por lo tanto no se puede alcanzar el valor de la CMI.

Ventajas de la técnica de dilución en agar frente a dilución en caldo. La realización de la técnica para obtener la CMI en medio sólido presenta varias ventajas:

-Con un aparato inoculador se pueden sembrar (replicar) varias cepas a la vez en una misma placa.

-Se puede detectar la presencia de una contaminación por el aspecto de la colonia (imposible en caldo).

-El medio se puede suplementar con sangre o sus derivados sin alterar el resultado. No se puede hacer lo mismo en caldo ya que sería difícil ver la turbidez producida por el crecimiento.

-Se pueden replicar controles junto a las cepas problema y eso nos permite variar las condiciones standard e interpretar correctamente los resultados.

La mayor diferencia entre una técnica y otra, radica en la interpretación de los resultados (inhibición del crecimiento o punto crítico). Mientras que en la dilución en agar, se interpreta la inhibición del crecimiento cuando no aparece ninguna colonia, una, o un pequeño velo producido por el inóculo, en la dilución en caldo una sola colonia "resistente" puede crecer y dar turbidez. Por lo tanto no es de extrañar, que las CMI's en agar, sean menores que las CMI's en caldo.

La técnica de dilución en caldo se suele emplear para estudios de capacidad bactericida ya que se pueden realizar subcultivos espaciados en el tiempo.

Para la realización de la técnica de dilución en agar hemos seguido la normativa de del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

Preparación de las soluciones madre de antibióticos.- Los antibióticos utilizados fueron los siguientes:

AMPICILINA, AMOXICILINA-CLAVULANICO, TICARCILINA , CEFUROXIMA, CEFOTAXIMA, CEFAZOLINA, CEFTAZIDIMA, AZTREONAM, IMIPENEM, GENTAMICINA, TOBRAMICINA, TRIMETOPRIM-SULFAMETOXAZOL, A. NALIDIXICO, CIPROFLOXACINO.

Se eligieron tres representantes de la penicilinas (ampicilina, amoxicilina-clavulánico y ticarcilina). Cuatro representantes de las cefalosporinas. Una de primera generación cefazolina, una de segunda, cefuroxima y dos de tercera, una con poca actividad contra *P. aeruginosa* cefotaxima y otra con actividad frente a *Pseudomonas* (ceftazidima). Dos nuevos betalactámicos imipenem y aztreonam. Dos representantes de los aminoglucósidos (tobramicina y gentamicina). Dos quinolonas (ac. nalidíxico y ciprofloxacino), la asociación trimetoprim-sulfametoxazol y trimetoprim sólo.

Los antibióticos se suministraron como sustancia valorada en polvo por el fabricante. En la combinación Amoxicilina-Clavulánico la proporción utilizada fue de 2/1. En la combinación Sulfametoxazol-Trimetoprim la proporción fue de 19/1. Una vez preparadas las soluciones madre, se congelaron a -30°C.

Preparación de las placas.- A partir de las soluciones madre descongeladas, se realizaron las diluciones oportunas. En todos los antibióticos menos en la ticarcilina se realizaron 12 placas con diluciones desde 0.03 µg/ml hasta 64 µg/ml. En la ticarcilina se realizaron diluciones desde 0.25 hasta 512 µg/ml.

Altos niveles de resistencia al trimetoprim.- Para la búsqueda de altos niveles de resistencia al trimetoprim se prepararon placas de agar Müeller-Hinton con una concentración final del antibiótico de 500 µg/ml.

Preparación del inóculo.- El inóculo es uno de los factores más importantes, y que más error puede producir a la hora de realizar determinaciones de CMI. Por eso se puso mucho interés en este apartado. Para la preparación del inóculo se realizó una suspensión bacteriana con una turbidez equivalente al tubo n 0.5 de la escala de McFarland medida con un nefelómetro comercial (Abbott). Esta suspensión contiene aproximadamente 10⁸ unidades formadoras de colonias por ml. (CFU). Esta suspensión posteriormente se diluye 10 veces y se inocula en los pocillos del replicador.

Replicación.-En todas las replications se utilizaron dos cepas control de la American Type Culture Collection (ATCC). Se utilizaron *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. La replicación se realizó con un replicador automático comercial Multipoint Inoculator (MAST) y además de las doce diluciones de cada antibiótico se replicaron dos placas control sin antibiótico. El replicador deposita 1-2 microlitros de la suspensión bacteriana, con lo que al final en el agar existen unas 10.000 UFC en una extensión de 5-8 mm. Tras la replicación las placas se incubaron 24 horas.

En ocasiones no se pudieron replicar todas las cepas de una especie debido a la imposibilidad de recuperarlas de la forma congelada o liofilizada. Este número fue muy pequeño (1 ó 2 cepas). Sin embargo debido a la sensibilidad de los bacilos no fermentadores a la congelación y liofilización, solo pudimos realizar la sensibilidad a los antimicrobianos de 95 BNF de un total de 119. El número de *P.aeruginosa* probado fue de 73 y el de *Acinetobacter* var. *anitratus* de 12.

Interpretación de los resultados.- Por facilitar la interpretación se toma la concentración mínima inhibitoria como la concentración mínima que inhibe completamente el crecimiento bacteriano, desconsiderando el crecimiento de una colonia aislada o el velo producido por el inóculo.

El punto crítico (breakpoint) es el valor de la CMI a partir de la cual una bacteria se considera resistente a un antimicrobiano. En la Tabla 9 figuran los valores de sensibilidad, resistencia o resistencia intermedia de la CMI según la normativa de la NCCLS. Nosotros, de acuerdo con numerosos autores de la bibliografía mundial, hemos considerado resistente a todo aquel microorganismo que no es sensible, es decir los valores de resistencia intermedia se consideraron resistentes. Se considera a un microorganismo sensible *in vitro* cuando por la información clínica, bacteriológica y farmacológica, se piensa que va a responder al tratamiento in vivo (Phillips y cols., 1988). Resistente es el que no va a responder y resistente intermedio es el que puede responder en circunstancias especiales (p.ej. si se puede elevar la dosis o, el antibiótico se concentra en el lugar de la infección).

Los resultados de la sensibilidad a los antimicrobianos se agruparán de la siguiente forma: primero se analizará la sensibilidad según la fermentación (enterobacterias) o no de la glucosa. Posteriormente se analizará la sensibilidad de aquellos géneros que bien por su número escaso de las especies integrantes por separado o bien por realizarse así en numerosos trabajos de la bibliografía consultada, sea interesante agrupar su estudio como género. Los géneros así estudiados son *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Citrobacter* y *Serratia*. Finalmente se reflejarán los resultados de las especies significativas ($n > 5$).

Cepas multirresistentes

Existen pocas publicaciones en las que se estudie el mecanismo de la multirresistencia (Sanders y Watanakunakorn, 1986). Si a esto añadimos la arbitrariedad de los criterios (McGowan, 1983) nos encontraremos con la dificultad de comparar nuestras cifras con las del resto del mundo. En general los mecanismos de multirresistencia hay que buscarlos en la pared bacteriana (Sanders y cols, 1984) o en plásmidos que confieren multirresistencia (Medeiros, 1982). No obstante en la mayoría de los casos la impermeabilidad de la pared no es suficiente para explicar la multirresistencia (Dang y cols, 1988).

Tratamiento informático de los resultados.

El análisis estadístico de los resultados se realizó según la prueba de la CHI 2 (Pearson) con un nivel de significación máximo de 0.05. Los cálculos estadísticos se realizaron con el programa informático SIGMA.

En las tablas, los porcentajes se han ajustado a un número entero. Se han ajustado al número superior si pasaban del valor medio y al inferior si no llegaban. Los valores intermedios figuran como tales. Así por ejemplo, 12.3 se ajusta a 12 y 15.6 se ajusta a 16. El número 14.5 figura como tal.

Con fines prácticos para el tratamiento informático, se consignó como 65 un valor de CMI mayor a 64 microg/ml y 0.02 a un valor de CMI menor o igual a 0.03 microg/ml.

Hoja I. Hoja de recogida de datos

HOSPITAL _____	N. CAMAS _____	1	2	
CIUDAD _____		3		
Nº REGISTRO DEL LAB. PROCEDENCIA* _____		4		
SERVICIO DE PROCEDENCIA DE LA MUESTRA _____		5		
TIPO DE MUESTRA** código: _____		6		
IDENTIFICACION*** _____		7		

* Este número deberá coincidir con el número rotulado en el tubo de agar inclinado para su correcta identificación.

** Código de tipo de muestras (orígenes).

- Hemocultivos..... SA
- Coprocultivos..... CO
- Urocultivos..... UR
- Muestras respiratorias..... RE
- Muestras intra-abdominales..... AB
- Heridas..... HE
- Catéteres intravasculares..... CI
- Absceso..... PU
- Hueso (incluido osteomielitis).. HU
- Otros..... OT (especificar)

*** Cuando se disponga de ella.

Nota.- No rellenar los apartados destinados a codificación numerados del 1 al 7.

TABLA 8. HOSPITALES PARTICIPANTES

CIUDAD	HOSPITAL	N° CAMAS
ANDALUCIA		
Almería	Torre Cárdenas	512
Cádiz	Moreno de Mora Prov.	446
Málaga	Carlos Haya	1368
Vélez-Málaga	H. Comarcal de la Axarquía	251
Sevilla	Virgen del Rocío	2057
Granada	Clínico San Cecilio	937
Córdoba	Provincial y Clínico	470
ARAGON		
Teruel	Hospital General (Obispo Polanco)	196
Zaragoza	Clínico Universitario	935
ASTURIAS		
Oviedo	H. General de Asturias	615
Riño-Langreo	Valle de Nalón	280
BALEARES		
Palma de M	Virgen del Lluch (Son Dureta)	1026
CANARIAS		
Las Palmas	Ntra Sra del Pino	364
Tenerife	H. Clínico de Tenerife	623
Tenerife	Ntra Sra de Candelaria	237
CANTABRIA		
Santander	Residencia Cantabria	351
Torrelavega	Cruz Roja	114
CASTILLA-LA MANCHA		
Albacete	Hospital General de la SS	520
Ciudad Real	Ntra Sra de Alarcos	352
Cuenca	Virgen de la Luz	186
Guadalajara	General y Docente	405
Toledo	Virgen de la Salud	552

CIUDAD	HOSPITAL	N° CAMAS
--------	----------	----------

CASTILLA-LEON

Burgos	Prov. Divino Vallés	250
León	Hospital Princesa Sofía	430
Salamanca	Clínico Universitario	940
Segovia	General de Segovia	329
Valladolid	Del Río Ortega	634

CATALUÑA

Barcelona	General del Valle de Hebrón	2218
Badalona	Germán Trías y Pujol	800
Hospitalet	Cruz Roja	267
Tarrasa	Mancom Sabadell-Tarrasa	500
Gerona	Gral Alvarez de Castro	312
Lérida	Prov. de Santa María	225
Tarragona	Juan XXIII	428

EXTREMADURA

Badajoz	H. Infanta Elena	475
N. de la Mata	Campo Arañuelo	123

GALICIA

La Coruña	Juan Canalejo	943
Santiago de C	General Clínico de Galicia	653
Vigo	General de Vigo	565
Ferrol	Arquitecto Marcide	316

MADRID

Madrid	H. Universitario San Carlos	1824
Madrid	12 de Octubre	1816
Madrid	De la Princesa	583

MURCIA

Murcia	Virgen de Arrixaca	619
Cartagena	Santa Mª del Rosell	311

NAVARRA

Pamplona	Virgen del Camino	645
----------	-------------------	-----

CIUDAD	HOSPITAL	N° CAMAS
---------------	-----------------	-----------------

PAIS VASCO

Baracaldo	De Cruces	1579
------------------	------------------	-------------

LA RIOJA

Logroño	General de la Rioja	185
----------------	----------------------------	------------

VALENCIA

Valencia	La Fe	2016
Alicante	Hospital del Insalud SVS	975
Castellón	Gran Vía	202

Tabla 7**COMUNIDADES:**

	Menos de 500	500-1000	Mas de 1000	Total
ANDALUCIA	3	3	1	7
ARAGON	1	1		2
ASTURIAS	1	1		2
BALEARES			1	1
CANARIAS		2	1	3
CANTABRIA	1		1	2
C. LA MANCHA	3	2		5
C. LEON	3	2		5
CATALUÑA	6		1	7
EXTREMADURA	1		1	2
GALICIA	1	2	1	4
MADRID		1	2	3
MURCIA	1	1		2
NAVARRA		1		1
PAIS VASCO			1	1
RIOJA	1			1
VALENCIA	1	1	1	3

Tabla 9

Antibiótico	Sensible	Intermedio	Resistente
	Menor o igual a	Igual a	Igual o Mayor que
Ampicilina	8	16	32
Amoxi-clavulánico	8/4	16/8	32/16
Ticarcilina	16	32-64	128
Cefazolina	8	16	32
Cefuroxima	8	16	32
Cefotaxima	8	16-32	64
Ceftazidima	8	16	32
Aztreonam	8	16	32
Imipenem	4	8	16
Gentamicina	4	8	16
Tobramicina	4	8	16
Cotrimoxazol	2/38	4/76	16/308
Acido nalidixico	16		32
Ciprofloxacino	4		8

RESULTADOS

I. IDENTIFICACION DE LOS MICROORGANISMOS:

Nos enviaron 823 muestras. Se recuperaron 791 y no pudimos recuperar 32. Se realizó la identificación de los 791 microorganismos con los sistemas de Enterotube II, API 20E y API 20NE (Tabla 10 y Fig. 2). Se identificaron todas las enterobacterias y no pudimos identificar 3 bacilos no fermentadores.

BACILOS GRAM NEGATIVOS INCIDENCIA

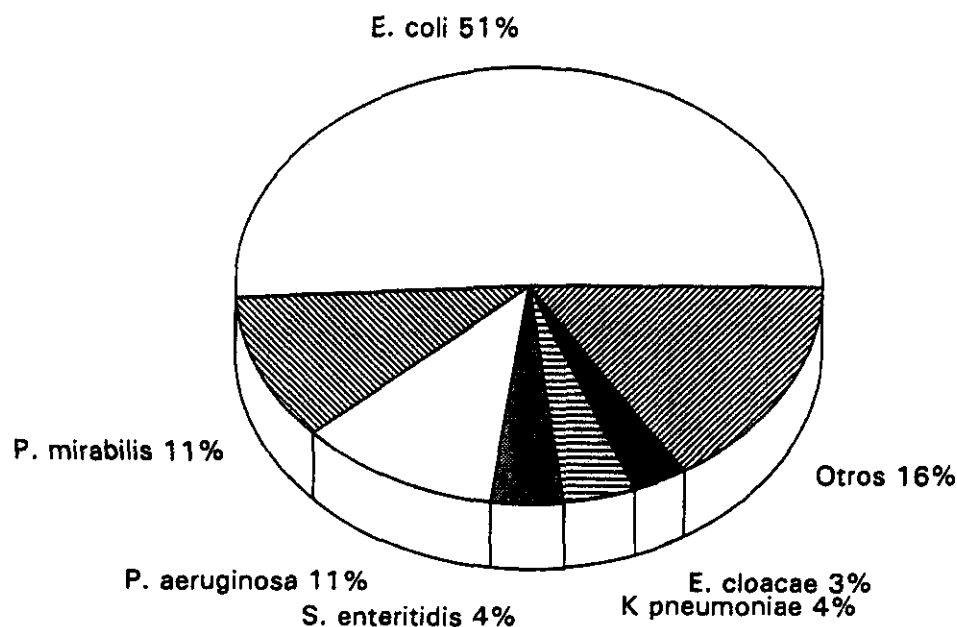


Fig. 2. Incidencia de los bacilos gram negativos.

Del total de microorganismos identificados, 672 fueron enterobacterias y 119 bacilos no fermentadores. Las enterobacterias se agrupaban en 11 géneros (Fig. 3) y los bacilos no fermentadores en 2 (Tabla 11).

ENTEROBACTERIAS DISTRIBUCION POR GENEROS

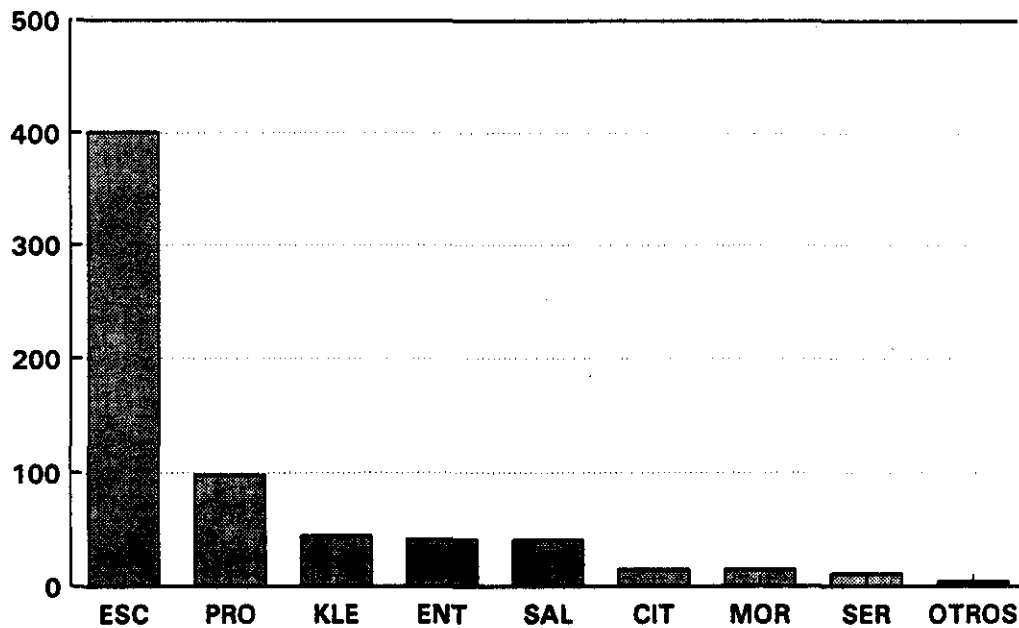


Fig. 3. Distribución de las enterobacterias en los diferentes géneros.

Las tres especies más comunes fueron *E.coli* (51%), *Proteus mirabilis* (11%) y *Pseudomonas aeruginosa* (11%). El resto de las especies representaron menos del 5% del total.

Distribución por comunidades:

En el planteamiento inicial de este estudio, interesaba de forma especial la distribución de las diferentes especies en las distintas comunidades autónomas (Tabla 12). De las tres especies más numerosas (*E. coli*, *P. mirabilis* y *P. aeruginosa*), es significativo que en Navarra el *E. coli* es casi la única especie aislada ($p < 0.05$), y en Andalucía (34%) se obtienen significativamente menos del porcentaje total ($p < 0.001$).

P. mirabilis se aísla en una proporción significativamente más alta en Baleares ($p < 0.01$), que en el resto de las comunidades.

Con respecto a *P. aeruginosa* destaca significativamente su ausencia en la comunidad de Baleares ($p < 0.05$) y en Canarias, Castilla-León y País Vasco, se aíslan aproximadamente el doble de *P. aeruginosa* que en el resto con una significativa estadística de $p < 0.01$, $p < 0.05$, $p < 0.05$ respectivamente. En Andalucía existe un número significativamente mayor para esta especie ($p < 0.05$) que en el resto de las comunidades.

En el resto de las especies, llama la atención, el elevado número de *Acinetobacter calcoaceticus* variedad *anitratus* ($p < 0.001$) y el de las *Serratia marcescens* ($p < 0.001$) en Andalucía, comparado con el resto de España. En Cataluña se aíslan el 46% de los *Enterobacter aerogenes* totales.

Servicio de procedencia de las muestras:

Las muestras procedían de un total de 37 Servicios Médicos y Quirúrgicos (Tabla 13). Los Servicios de Medicina Interna, Pediatría y Urología fueron los que enviaron más muestras (Fig. 4). En las especialidades quirúrgicas la mayoría de las muestras procedían de Cirugía General, Traumatología, ORL y Neurocirugía.

SERVICIOS DE PROCEDENCIA

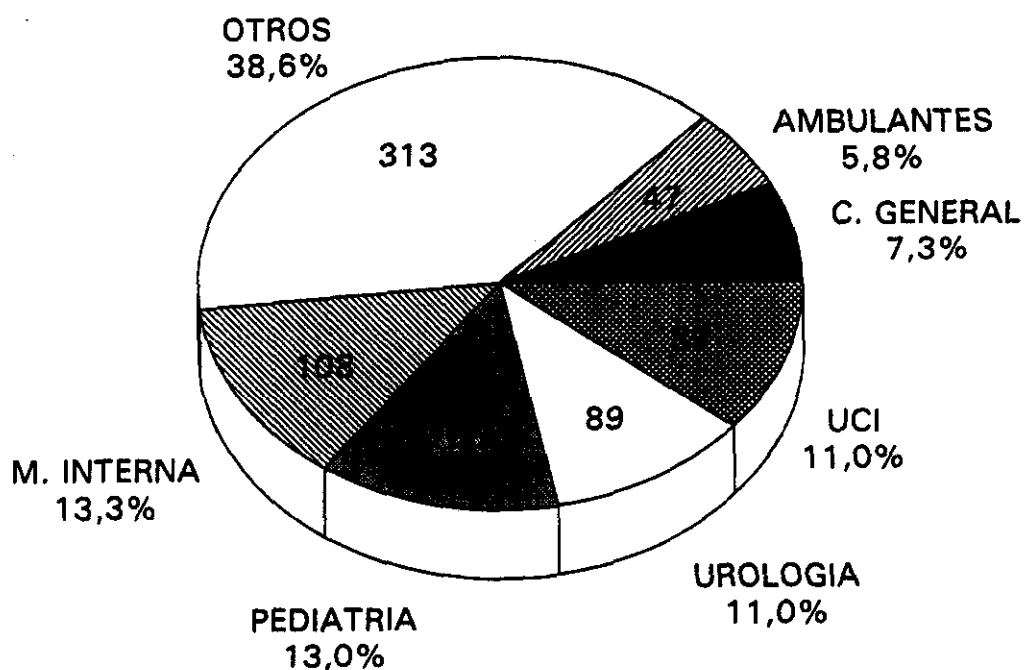


Fig. 4. Servicios de procedencia de los bacilos gram negativos

En general en cada uno de los Servicios citados *E.coli* sigue siendo el microorganismo más aislado seguido de *P. mirabilis* y *P. aeruginosa*. Sin embargo en los Servicios de Cirugía Torácica destaca el gran número de *Enterobacter aerogenes* siendo el 44% de los aislados de estos Servicios. *Pseudomonas aeruginosa* es el microorganismo más aislado en los Servicios de Dermatología (60%), Otorrinolaringología (60%), Neurocirugía (36%) y Unidad de cuidados Intensivos (26%). En los servicios de Pediatría *Klebsiella pneumoniae* constituye el 8% de los aislados. Aproximadamente la mitad de los *Acinetobacter calcoaceticus* subs. *anitratus* proceden de las Unidades de Cuidados Intensivos y constituyen el 12% de los aislados en estas Unidades. *E. coli* solo representa el 22% de los aislados.

Tipo de muestras:

En la ficha de recogida de datos, se consignó el tipo de muestra de la que se aisló la bacteria (Tabla 14). El tipo de muestra más frecuente fue el urocultivo siendo el origen de más de la mitad de los microorganismos aislados (Fig. 5)

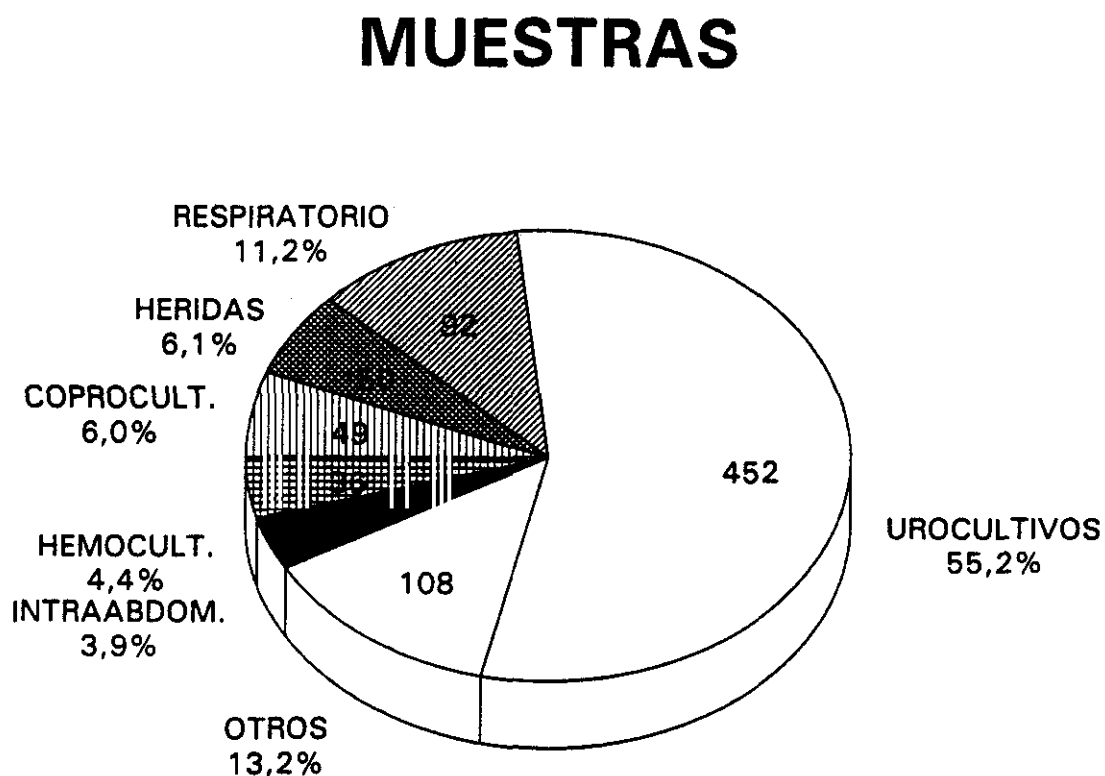


Fig. 5. Procedencia de las muestras

En casi todos los grupos se encuentra aproximadamente el 50% de *E.coli* seguido de *P.mirabilis* y *P. aeruginosa* (ambas en el 10% aproximadamente). En urocultivos, existe un aumento significativo de *E.coli* ($p < 0.5$) y una disminución de *P. aeruginosa* ($p < 0.01$)(Fig. 6). En los coprocultivos *Salmonella* spp. se aísla en el 67% del total de bacterias de esta procedencia. En las muestras de origen respiratorio se identifican un 35% de *P. aeruginosa* y un 10% de *A. calcoaceticus* subs. *anitratus*.

MUESTRAS ORINA

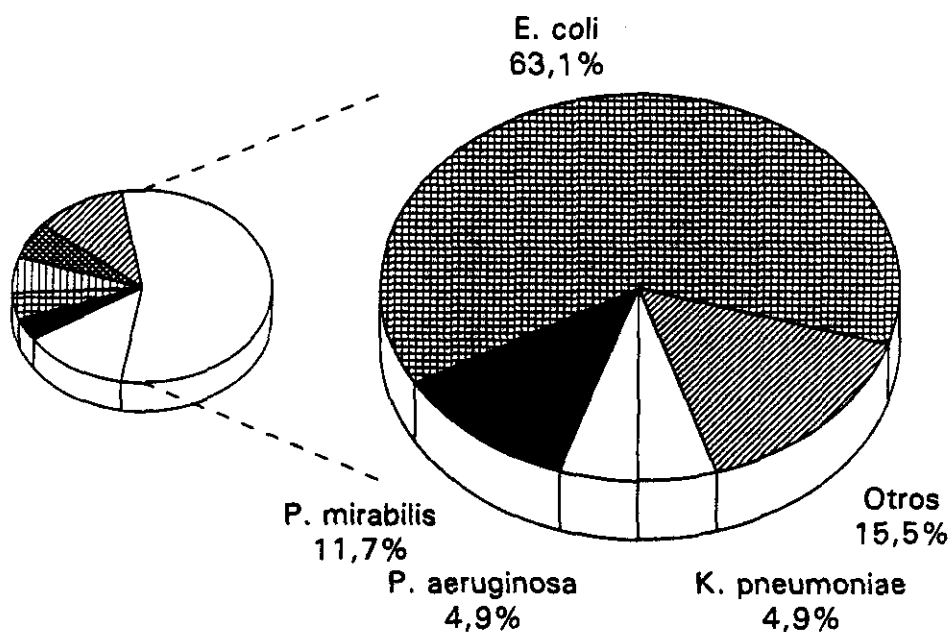


Fig. 6. Microorganismos aislados en urocultivos.

II. SENSIBILIDAD A LOS ANTIBIOTICOS.

La sensibilidad a los antimicrobianos se realizó con la técnica de dilución en agar. Debido a la sensibilidad de algunos microorganismos a la congelación y liofilización, no se pudo realizar la prueba de sensibilidad a los 791 bacilos identificados (Fig. 7). El número de enterobacterias que no pudimos recuperar fue de 9 (1.3%) y el de BNF de 23 (19%). El tratamiento estadístico de las CMI y los porcentajes de resistencia se realizó únicamente en aquellas especies que alcanzaron un número mayor de 5, considero significativo ($p < 0.01$) para el análisis estadístico.

BACILOS GRAM NEGATIVOS **% RESISTENCIAS**

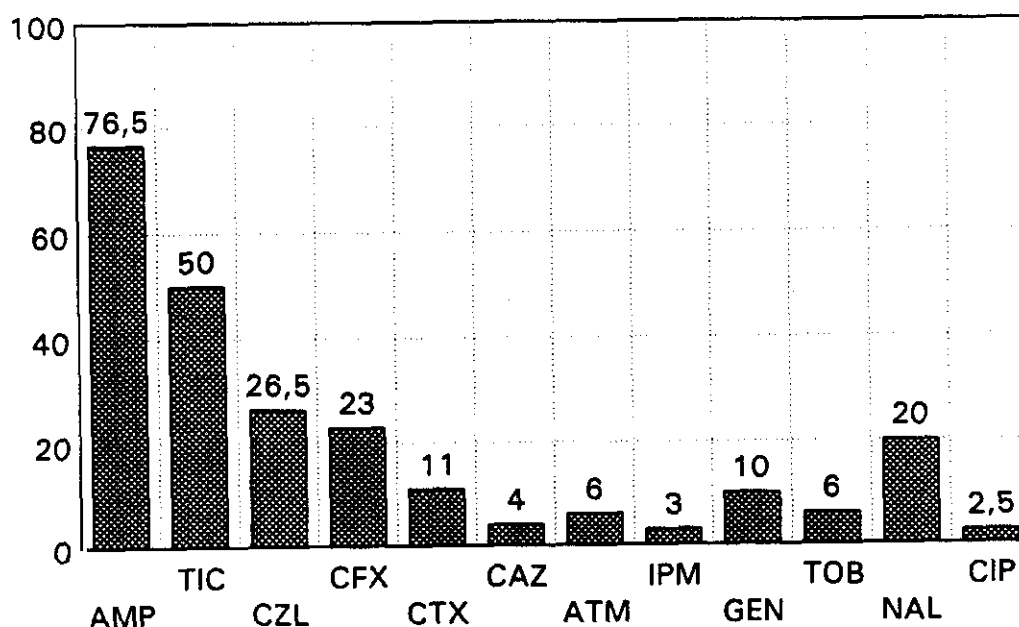


Fig.7. Resistencia de los bacilos gram negativos.

SENSIBILIDAD DE LAS ENTEROBACTERIAS

Enterobacterias

El total de enterobacterias en las que se estudió la sensibilidad fue de 663. En la tabla 15 y Fig. 8 se representa el porcentaje de resistencias. Alrededor del 50% son resistentes a ampicilina y ticarcilina, un tercio a amoxicilina-clavulánico, un cuarto a cotrimoxazol, alrededor del 14% a las cefalosporinas de primera y segunda generación y menos del 3% a las de tercera generación. Las resistencias a aztreonam e imipenem son bajas (2.7 y 0.9% respectivamente). Respecto a los aminoglucósidos tenemos una resistencia de 5% a gentamicina y del 3.5% a tobramicina. En las quinolonas existe una gran diferencia entre el ácido nalidíxico (8.6%) y ciprofloxacino (1.66%).

ENTEROBACTERIAS

% RESISTENCIAS

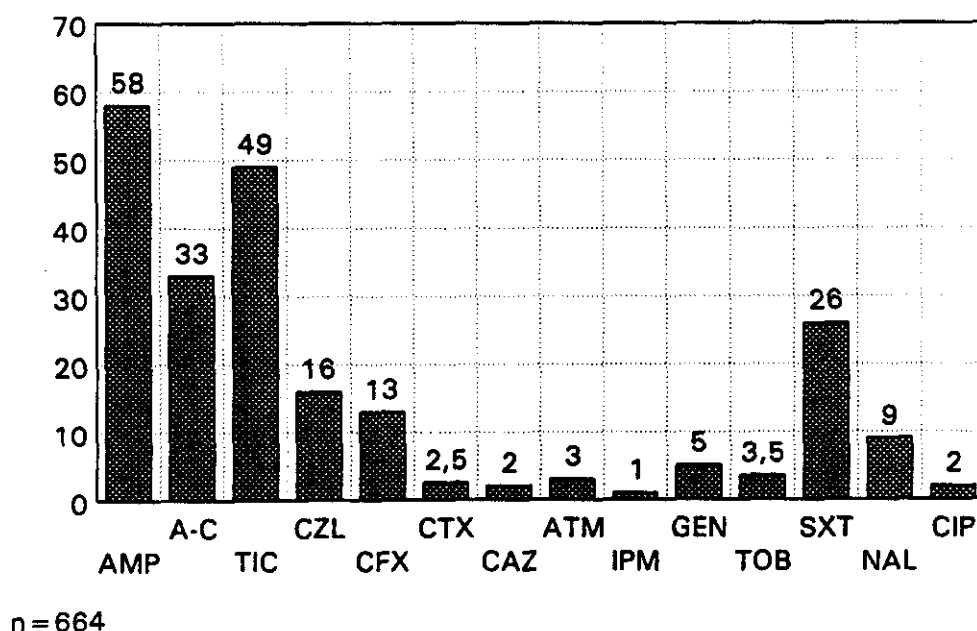


Fig.8. Resistencia de las enterobacterias

En total hemos encontrado un total de 184 cepas con altos niveles de resistencia al trimetoprim (CMI > 500mg/l) lo que representa un 27.4% del total de las enterobacterias. Entre las cinco especies de enterobacterias más numerosas, encontramos con altos niveles de resistencia 133 *E. coli* (34.19%), 29 (36.7%) *P. mirabilis*, 4 *E. cloacae* (17.39%), una *K. pneumoniae* y una *S. enteritidis* (3.3 y 3% respectivamente).

Resistencia de las enterobacterias según las comunidades autónomas.

Haciendo un estudio de las resistencias de las enterobacterias según la comunidad autónoma existen diferencias significativas ($p < 0.05$) de algunas comunidades comparadas con el resto de España.

En Canarias la sensibilidad a ampicilina es mayor que en la península. La resistencia a amoxicilina-ácido clavulánico es mayor en Aragón y Asturias. La resistencia a ticarcilina es menor en Canarias mientras que la resistencia es mayor en Castilla-La Mancha. La resistencia a cefazolina es mayor en Asturias y sorprende la inexistencia de resistencias a cefuroxima en Baleares. Con respecto a las cefalosporinas de tercera generación en Castilla-La Mancha existe una mayor resistencia a la ceftazidima mientras que en el País Vasco la resistencia es mayor para la cefotaxima. En los aminoglicósidos, el número de resistencias a la tobramicina es mayor al esperado en Asturias, Castilla-La Mancha y País Vasco. No existen diferencias significativas con respecto a la gentamicina. En las quinolonas, Murcia es la única comunidad autónoma con una resistencia más elevada al ácido nalidíxico de lo esperado, y Castilla-La Mancha y Madrid son las únicas comunidades en las que existe resistencia a ciprofloxacino.

Castilla-La Mancha presenta una desviación significativa con respecto al cotrimoxazol ya que tiene mayor número de cepas resistentes que el resto de España.

Sensibilidad según el género

Género *Klebsiella*.- En nuestro trabajo, pertenecen al genero *Klebsiella* 45 microorganismos distribuidos en 32 *Klebsiella pneumoniae*, 10 *Klebsiella oxytoca*, y 3 *Klebsiella ozaenae* (Fig. 9).

GENERO KLEBSIELLA

DISTRIBUCION SEGUN ESPECIES

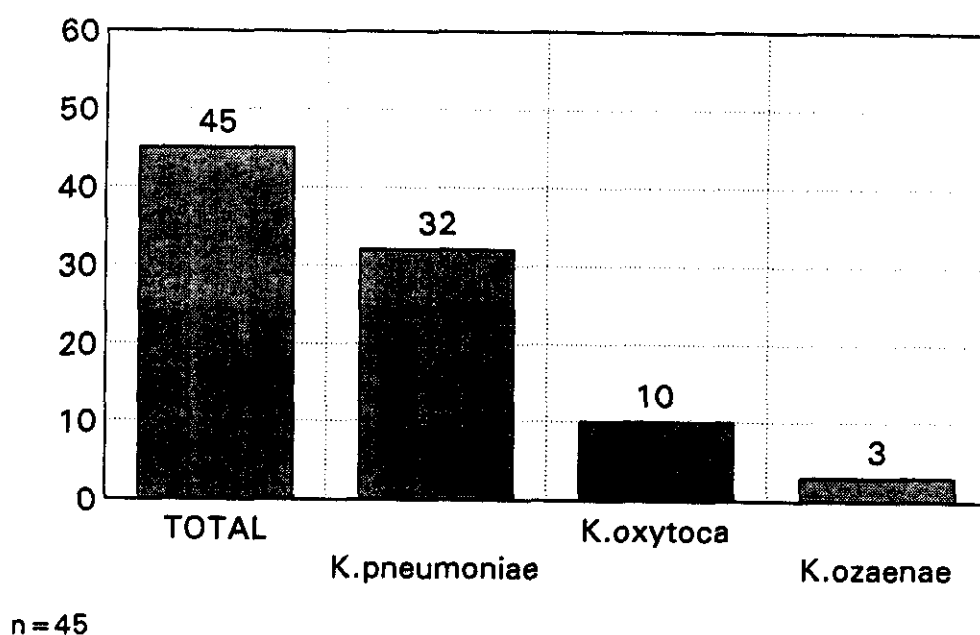
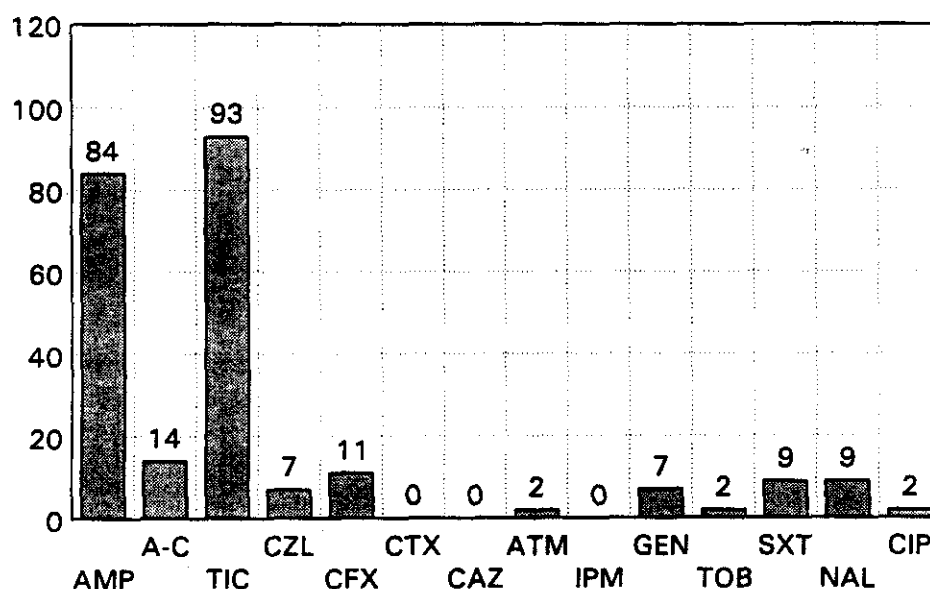


Fig. 9. Proporción de especies en el género *Klebsiella*

En el estudio de resistencia a nivel de género (Tabla 16) se aprecia un alto nivel de resistencia a la ampicilina (84%) y a la ticarcilina (93%), moderado a la combinación amoxicilina-clavulánico (14%), cefuroxima (11%), cotrimoxazol (9%) y ácido nalidíxico (9%) y bajo a cefazolina (7%) y gentamicina (7%). El nivel de resistencia a aztreonam y tobramicina (2 y 2% respectivamente) y ciprofloxacino (2%) son muy bajos. No existen resistencias a cefotaxima, ceftazidima e imipenem (Fig. 10).

GENERO KLEBSIELLA

% RESISTENCIAS



n = 45

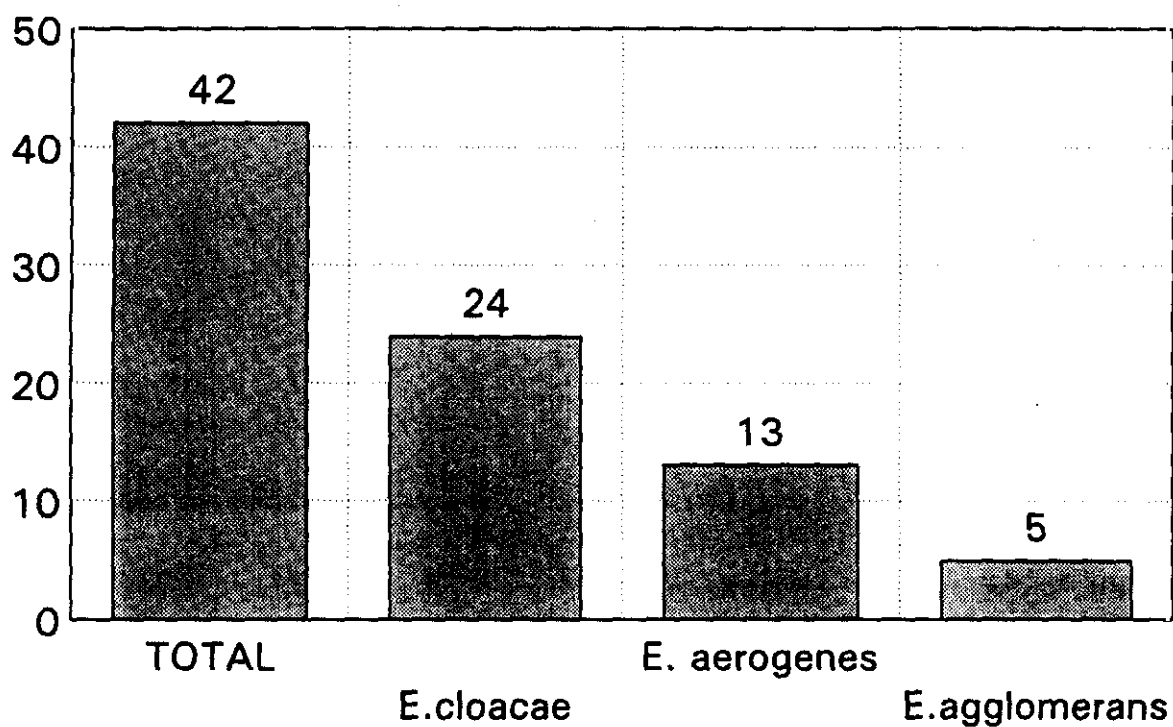
Fig. 10. Porcentaje de resistencias del género *Klebsiella*

Género *Enterobacter*. - Los 42 bacilos de este género, se agrupan en 24 *Enterobacter cloacae*, 13 *Enterobacter aerogenes*, y 5 *Enterobacter agglomerans* (Fig. 11).

Junto al género *Serratia* es el que presenta unos niveles más altos de resistencia. Este género presenta una alta resistencia a ampicilina (86%) (Tabla 17), amoxicilina-clavulánico (88%), y cefazolina (88%). La resistencia a cefuroxima es del 50% y a ticarcilina del 43%. Alrededor de un tercio de las bacterias de este género son resistentes a la cefotaxima (35%), ceftazidima (32.5) y aztreonam (33%). Una cuarta parte son resistentes a la tobramicina (24), y al cotrimoxazol (26). El 21% son resistentes al ácido nalidíxico y un 12% a la gentamicina. El nivel de resistencia a ciprofloxacino es moderado con un 7%. No existe resistencia al imipenem (Fig. 12).

GENERO ENTEROBACTER

DISTRIBUCION SEGUN ESPECIES



n=42

Fig. 11. Proporción de especies del género *Enterobacter*

GENERO ENTEROBACTER % RESISTENCIAS

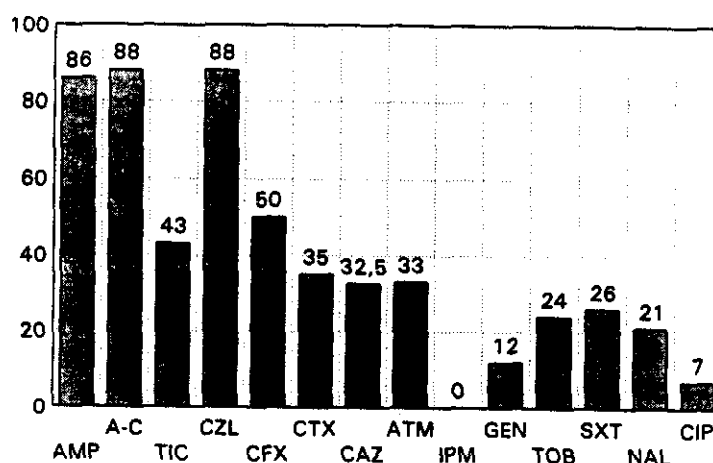


Fig. 12. Porcentaje de resistencias del género *Enterobacter*

Género *Salmonella*. - En este estudio este género está integrado por 41 aislados. Existen 34 *Salmonella enteritidis*, 3 *Salmonella typhimurium*, 2 *Salmonella paratyphi* B, y 2 *Salmonella typhi*. Es el género con menor porcentaje de resistencias (Tabla 18). Nunca supera el 31% de resistencia a ningún antibiótico. No existen resistencias en la mitad de los antibióticos probados y solo se aísla un bacilo (2.5%) resistente al cotrimoxazol (Fig. 13).

GENERO SALMONELLA % RESISTENCIAS

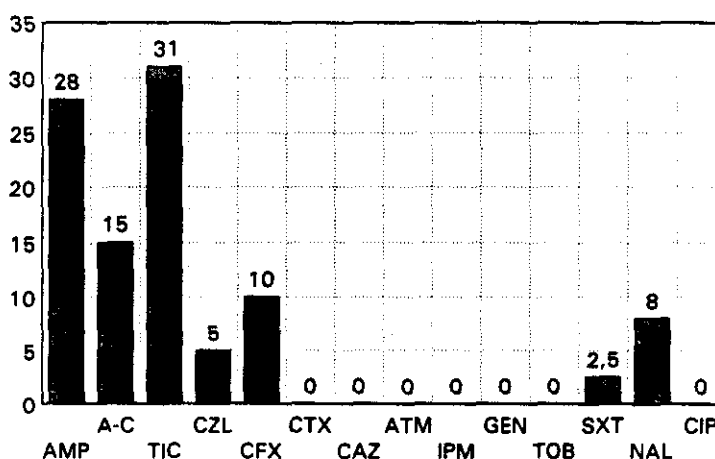


Fig. 13. Porcentaje de resistencias del género *Salmonella*

Género *Citrobacter*.-Entre los 14 *Citrobacter freundli* y el único *Citrobacter diversus*, suman los 15 microorganismos de este género. El porcentaje de resistencias figura en la Tabla 19. Llama la atención el mayor porcentaje de resistencias a amoxi-clavulánico (86%) que a ampicilina (64). La resistencia a ticarcilina, cefazolina y cefuroxima se sitúa alrededor de un tercio (36, 36, y 28.5% respectivamente). La resistencia a cefotaxima, gentamicina, cotrimoxazol y ácido nalidíxico es del 7%. No existen bacilos resistentes a ceftazidima, aztreonam, imipenem, tobramicina y ciprofloxacino (Fig. 14).

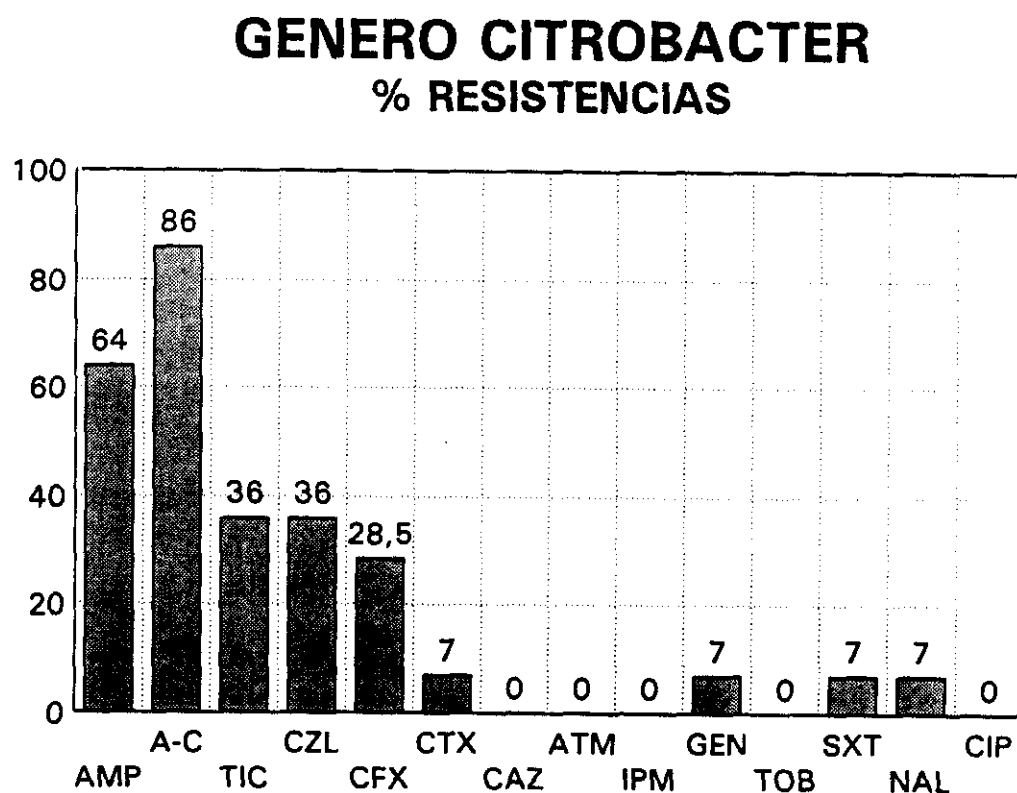


Fig. 14. Porcentaje de resistencias del género *Citrobacter*

Género *Serratia*.- Constituyen este género 11 aislados, 7 *Serratia marcescens* y 4 *Serratia liquefaciens*. Junto al género *Enterobacter* presenta unos altos niveles de resistencia (Tabla 20). Existe una resistencia por encima del 80% para ampicilina, amoxicilina-clavulánico, cefazolina y cefuroxima (82, 82, 91, y 82% respectivamente). La resistencia a la ticarcilina es del 54.5% y a la cefotaxima y aztreonam del 9%. La resistencia a la gentamicina y al ácido nalidíxico es del 18.1% y a la tobramicina del 27% igual porcentaje que al cotrimoxazol. No existen resistencias a la ceftazidima, al imipenem ni a ciprofloxacino (Fig. 15)

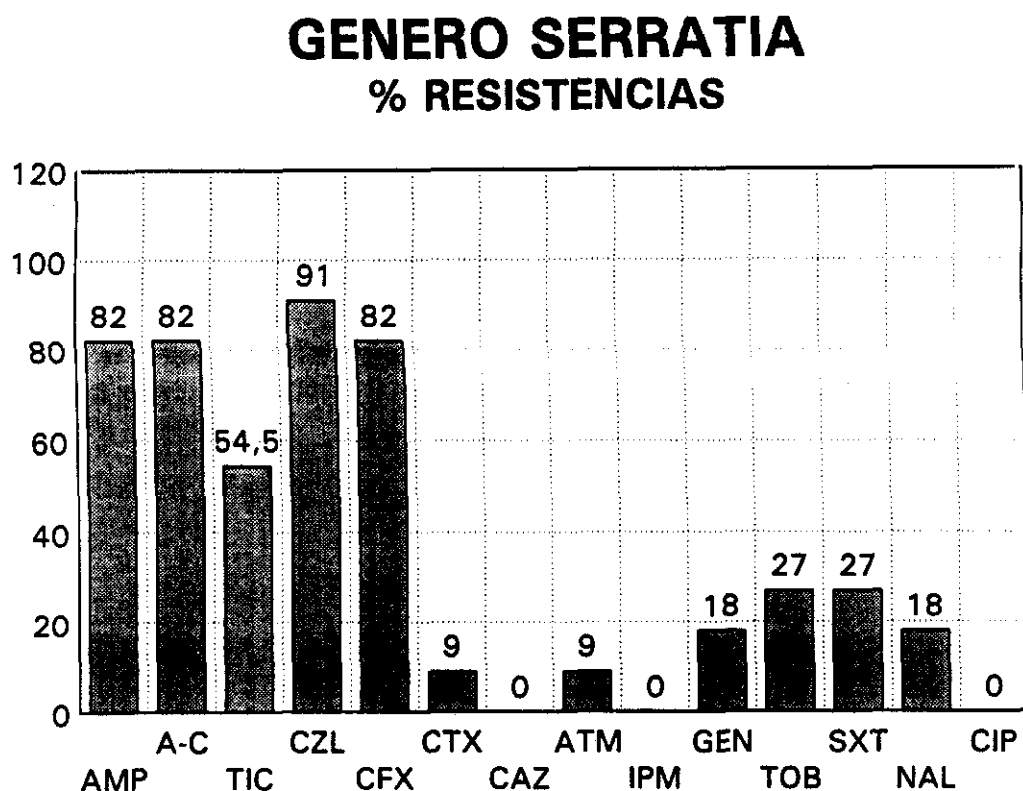


Fig. 15 . Porcentaje de resistencias del género *Serratia*

Especies bacterianas

E. coli

Los resultados de la determinación de la CMI de *E. coli* se recoge en la tabla 21. Las CMI 90 de ampicilina y ticarcilina fueron mayores de 64 y 512 microg./ml. respectivamente. Las CMI 50 de estos antibióticos esta también por encima de las concentraciones críticas que definen a estos fármacos como eficaces in vivo contra este microorganismo. Las CMI de cefalosporinas, imipenem y aztreonam son inferiores a las concentraciones críticas inhibitorias de cada antibiótico.

La CMI 90 a cotrimoxazol es asimismo, superior a la CMI de resistencia.

En cuanto al porcentaje de resistencias (Tabla 22), esta especie bacteriana, presenta una resistencia del 55.4 y 53.9% a ampicilina y ticarcilina respectivamente. La resistencia es de alrededor de un tercio para amoxicilina-clavulánico y cotrimoxazol (30.22 y 29.44% respectivamente). Existe una resistencia baja a ácido nalidíxico, cefazolina y cefuroxima (7.82, 4.7 y 4.54%). La resistencia es muy baja a gentamicina, tobramicina y ciprofloxacino (2.79, 1.26, 1.51%). Existe solo una cepa resistente a aztreonam y ninguna a cefotaxima, ceftazidima e imipenem.

P. mirabilis

Los resultados de la determinación de la CMI de *P. vulgaris* se recoge en la Tabla 23. Las CMI 90 de ampicilina y ticarcilina fueron mayores de 64 y 512 microg./ml. respectivamente. Las CMI 90 para amoxicilina-clavulánico y cefazolina, están en los niveles de resistencia intermedia, y la CMI 90 para cotrimoxazol es superior a los niveles de resistencia. Llama la atención el elevado valor de la CMI 90 para imipenem (4 microg/ml).

Estudiando las resistencias (Tabla 24) se observa que el porcentaje más alto de resistencia se establece con la ampicilina (42%) seguido de ticarcilina (29.2%) y cotrimoxazol (27.27%). La

resistencia a las cefalosporinas de primera generación se sitúa alrededor del 10% (cefazolina 10% y cefuroxima 7.86%). No han aparecido resistencias a las cefalosporinas de tercera generación. Existe una cepa resistente al aztreonam y tres cepas resistentes al imipenem (3.4%). La resistencia a gentamicina es moderada (10.22%) y a tobramicina es de 3.4%. En cuanto a las quinolonas, la resistencia a ácido nalidíxico es del 6.74% y no hemos encontrado resistencias a ciprofloxacino.

Salmonella enteritidis

Salmonella tiene una CMI 90 por encima de los niveles de resistencia para ampicilina y ticarcilina y una CMI 90 intermedia para amoxi-clavulánico. A diferencia de las anteriores, presenta una CMI 90 de sensibilidad al cotrimoxazol (Tabla 25).

Como ya se señaló en la descripción de resistencias en el género, esta especie es la más sensible de las estudiadas (Tabla 26). Comparando los porcentajes de resistencia entre la *S. enteritidis* y el género *Salmonella*, prácticamente no existen diferencias. La especie bacteriana es ligeramente más sensible a la combinación amoxicilina-clavulánico y a la cefazolina (12.5 frente a 15% y 3 frente al 5%) y también ligeramente más sensible a la cefuroxima (6 frente al 10%). En el resto de antibióticos las diferencias son mínimas o no existen.

Klebsiella pneumoniae

Según se desprende de este estudio, el género *Klebsiella* (Tabla 27) solo tiene una CMI 90 para dos antibióticos dentro de los niveles de resistencia. Estos antibióticos son ampicilina y ticarcilina. Hay que resaltar que también la CMI 50 y 25 están en este género dentro de los niveles de resistencia intermedia para este último antibiótico.

Si comparamos la resistencia de esta especie (Tabla 29) con la resistencia del género (Tabla 16), comprobamos que en general la *K. pneumoniae* es ligeramente más sensible en todos los

antibióticos a excepción de ciprofloxacino y la tobramicina. A pesar de todas estas diferencias son prácticamente despreciables. No existe ninguna *K. pneumoniae* resistente al aztreonam.

Enterobacter cloacae

Enterobacter cloacae presenta en 9 antibióticos una CMI 90 cuyo nivel se considera de resistencia. Estos antibióticos son los representantes de las penicilinas y las cefalosporinas, el aztreonam y el cotrimoxazol (Tabla 30). Llama también la atención que la CMI 25 y 50 también están por encima de los niveles de resistencia para los antibióticos amoxicilina-clavulánico y cefazolina.

El porcentaje de resistencias de *E. cloacae* figura en la Tabla 31. Sorprendentemente existen grandes diferencias si comparamos esta especie con su género (Tabla 17). Con el antibiótico ticarcilina, existe un 21% de resistencia de *E. cloacae* comparado con el 43% del género. En la cefuroxima el porcentaje de resistencia es del 33% para la especie y del 50% para el género. También existe notable diferencia para la cefotaxima (21 y 35% especie y género respectivamente) y casi la misma diferencia para la ceftazidima (21 y 32.5%) y el aztreonam (21 y 33%). La resistencia de *E. cloacae* a la gentamicina es ligeramente inferior (8 frente al 12%) y en tobramicina es la mitad (12.5 frente a 24%). En el ácido nalidíxico la resistencia de *E. cloacae* es un tercio inferior (8 y 21%) y en la especie no se encuentran resistencias a ciprofloxacino (7% en el género).

Morganella morganii

A diferencia de los microorganismos anteriores, *M. morganii* tiene una CMI 90 a ticarcilina, dentro de los niveles de sensibilidad (tabla 32). Presenta, asimismo, una CMI 25, 50 y 90 dentro de los niveles de resistencia para ampicilina y cefazolina, y una CMI 50 y 90 con niveles de resistencia para amoxi-clavulánico. La CMI 50 para cefuroxima e imipenem se considera de resistencia intermedia. Al igual que para *E. coli* y *P. mirabilis*, la CMI 90 para cotrimoxazol está dentro del intervalo de resistencia.

Estudiando su resistencia (Tabla 33), llama la atención la alta resistencia a ampicilina (87%), amoxicilina-clavulánico (80%), cefalosporinas de primera y segunda generación (87 y 67% respectivamente) y sin embargo existe una baja resistencia a la ticarcilina (7%). No existen resistencias a cefotaxima, ceftazidima y aztreonam y aparecen 2 cepas resistentes a imipenem (13%). La resistencia a aminoglucósidos y quinolonas es moderada (7%) y al cotrimoxazol es del 20%.

Citrobacter freundii

Este microorganismo tiene una CMI 90 por encima de los niveles de resistencia para ampicilina, cefazolina y cefuroxima y niveles intermedios de resistencia para ticarcilina (tabla 34). La CMI 90, 50 y 25 está por encima de los niveles de resistencia para el amoxi-clavulánico. La CMI 90 para cefotaxima está en el límite de la sensibilidad.

Las resistencias de esta especie figuran en la Tabla 35 y han sido comentadas a nivel de género.

Enterobacter aerogenes

Es junto al *Enterobacter agglomerans* la enterobacteria que presenta mayor número de CMI 90 con niveles de resistencia. En realidad, el *Enterobacter aerogenes*, solo tiene unos niveles de CMI dentro de la sensibilidad para imipenem y gentamicina. Llama la atención que la CMI90 se sitúe dentro de los niveles de resistencia incluso para ciprofloxacino.

Las CMI para este microorganismo se representan en la Tabla 36. La CMI 25, 50 y 90 para ampicilina, amoxi-clavulánico, ticarcilina y cefazolina, son superiores a los niveles de resistencia. La CMI 50 para cefuroxima, cefotaxima y ceftazidima están en los niveles de resistencia intermedia.

Comparando las resistencias de *E. aerogenes* con *E. cloacae*, (Tablas 37 y 31) se aprecia como *E. aerogenes* presenta unos niveles de resistencia de casi el doble o más para ticarcilina, cefuroxima, cefotaxima, ceftazidima, aztreonam, tobramicina, cotrimoxazol, ácido nalidíxico y ciprofloxacino. El único antibiótico en el que el porcentaje de resistencia es menor, es para la gentamicina (Fig. 16).

ENTEROBACTER DIFERENCIAS ENTRE ESPECIES

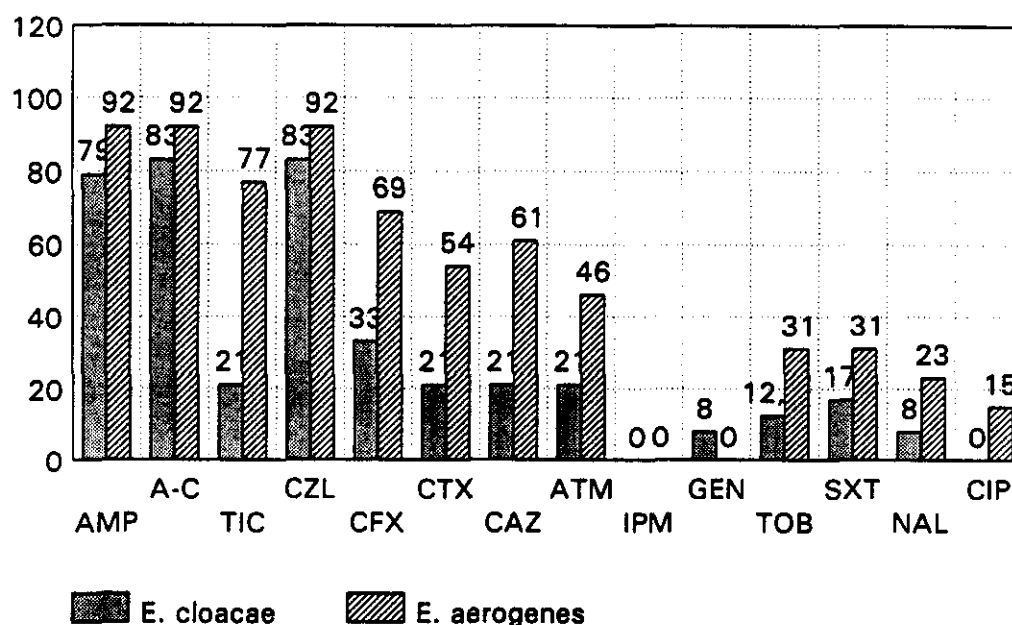


Fig. 16. Diferencia de resistencias entre *E. aerogenes* y *E. cloacae*

Klebsiella oxytoca

Esta especie se ha comentado junto a la *Klebsiella pneumoniae*. Sus resultados se presentan en la tabla 38 y 39. Las diferencias de resistencia con respecto al género son poco valorables.

P. vulgaris

Los resultados de la determinación de la CMI de *P. vulgaris* se recoge en la tabla 40. Las CMI 90 de ampicilina y ticarcilina fueron mayores de 64 y 512 microg./ml. respectivamente. La CMI 90 y 50 para cefuroxima es mayor de 64 y 32 respectivamente. Presenta, asimismo, niveles de CMI 90 de resistencia para gentamicina y cotrimoxazol.

Todas las cepas son resistentes a ampicilina y cefazolina (Tabla 41), y la resistencia a cefuroxima es del 87.5%. Existe una moderada resistencia a la amoxicilina-clavulánico (12.5%) igual que al imipenem (12.5%) y a la gentamicina (12.5%). La resistencia es del 25% para la ticarcilina y el cotrimoxazol y no existen resistencias a las quinolonas.

Serratia marcescens

Al igual que *Enterobacter*, *Serratia* tiene unas CMI 90 dentro de los niveles de resistencia para numerosos antimicrobianos. Presenta niveles de resistencia para las penicilinas, cefalosporinas (a excepción de la ceftazidima), aminoglucósidos, cotrimoxazol y ácido nalidíxico (Tabla 42). Tiene una CMI 90 de resistencia intermedia a aztreonam.

A excepción de que todas las *Serratia marcescens* son resistentes a cefazolina y cefuroxima (Tabla 43), no existen grandes diferencias de la resistencia de esta especie comparándolo con el género (Tabla 18).

SENSIBILIDAD DE LOS BACILOS NO FERMENTADORES

En total se ha estudiado la sensibilidad de 95 BNF. La diferencia con el número inicial de 119 ya ha sido comentada. Los resultados de la sensibilidad figuran en la Tabla 44. La resistencia a la ticarcilina es del 58%. El porcentaje de resistencia a la cefotaxima también es muy elevado (69.5%) y a la ceftazidima es del 14%. La resistencia al aztreonam es doble que al imipenem (32 y 16% respectivamente), y también casi el doble a la gentamicina que a la tobramicina (43 y 23%). La cifra más baja de resistencias es para ciprofloxacino (8%).

Pseudomonas aeruginosa

El número de *P. aeruginosa* en los que se ha probado su sensibilidad es de 73. Esta especie solo tiene una CMI 90 dentro de la sensibilidad ciprofloxacino e intermedia a tobramicina (Tabla 45). Presenta una CMI 90 y 50 de resistencia a las penicilinas, cefalosporinas (a excepción de ceftazidima), aztreonam, gentamicina y nalidíxico. Sorprende la alta CMI 90 (16 microg/ml) al imipenem.

Al igual que el resto de los BNF, la *P. aeruginosa* (Tabla 46), presenta un porcentaje de resistencia del 57.5% para la ticarcilina y 75% para la cefotaxima. La resistencia a la ceftazidima es del 10%. Casi un cuarto (24%) de las *P. aeruginosa* son resistentes al aztreonam y un quinto (20%) al imipenem. La resistencia a gentamicina sigue siendo doble que a tobramicina (37 y 16%) y a ciprofloxacino es moderada 7% (Fig. 17).

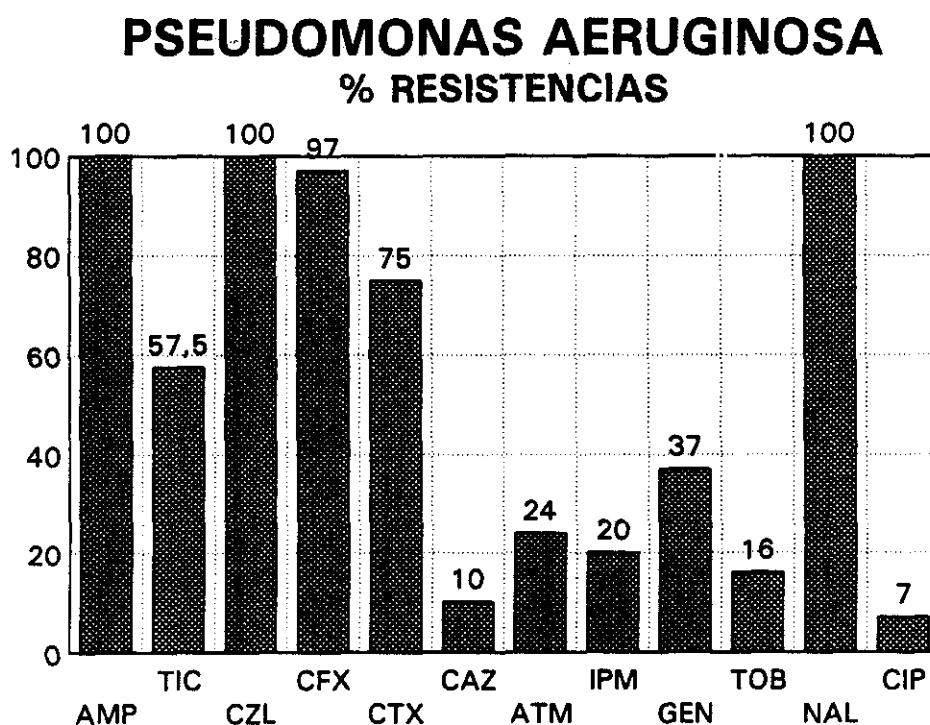


Fig. 17. Porcentaje de resistencias de *P. aeruginosa*

Acinetobacter calcoaceticus subs *anitratus*

Es conocida la alta resistencia de este organismo a los antimicrobianos comunes. Es el microorganismo más resistente de los estudiados, y solo tiene una CMI 90 dentro de la sensibilidad al Imipenem (Tabla 47).

En cuanto a sus resistencias (Tabla 48) al igual que el resto de los BNF el porcentaje a ticarcilina es del 58.33%, muy alto a cefotaxima y aztreonam (66.66 y 83.33% respectivamente) y del 41.66% a ceftazidima. La cifra para el imipenem es del 8.33% y el porcentaje para los aminoglucósidos es también muy elevado (75% para la gentamicina y 50% para la tobramicina). La cifra para ciprofloxacino es del 16.66%

CEPAS MULTIRRESISTENTES

Definimos cepas multirresistentes a aquellas cepas que presentan resistencia a más de un grupo antibiótico. Hemos dividido los antibióticos utilizados en cuatro grupos. En las enterobacterias en el grupo de los betalactámicos incluimos la ampicilina, amoxicilina-clavulánico, cefalosporinas, aztreonam e imipenem. En el grupo de los aminoglucósidos la gentamicina y la tobramicina. El tercer grupo lo integra el cotrimoxazol y en el cuarto solo hemos incluido ciprofloxacino. Las cepas de enterobacterias resistentes a algún betalactámico y al cotrimoxazol no las hemos considerado multirresistentes.

Para el estudio de multirresistencia de los BNF los antibióticos incluidos en el grupo de los betalactámicos son la ticarcilina, cefotaxima, ceftazidima, aztreonam e imipenem, y no hemos estudiado el cotrimoxazol. El tercer y cuarto grupo no sufre variación.

Del total de 758 cepas estudiadas, 81 (10.5%) de las cepas presentan resistencia a dos o más grupos (Tabla 51). 1 (0.13%) presenta resistencia a los cuatro grupos, 36(4.7%) son resistentes a tres grupos y 44 (5.8%) a dos grupos.

Cepas resistentes a los cuatro grupos.- Con este criterio solo hemos encontrado una cepa. Es un *E. aerogenes* del hospital Virgen de la Salud de Toledo. Esta cepa presenta una CMI superior a 64 mg/l para las penicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación y una CMI de 16 para el aztreonam. La CMI para los aminoglucósidos es de 8 mg/l lo mismo que para ciprofloxacino y de 16 mg/l para el cotrimoxazol. Solo es sensible a las cefalosporinas de tercera generación y al imipenem (0.02, 0.12 y 1 mg/l respectivamente)

Resistencia a tres grupos.- Existen 36 cepas que cumplan los criterios de inclusión en este grupo, de las cuales 27 son enterobacterias (3.9%), y 9 BNF (9.4%). Estas cepas se agrupan en 3 subgrupos:

- 22 (BF) resistentes a betalactámicos, aminoglicósidos, y cotrimoxazol. De estas cepas 7 son *E. coli*, 5 *Proteus mirabilis*, 4 *Enterobacter* spp, 2 *Serratia* spp, 2 *Klebsiella* spp y una *Morganella morganii* y un *Proteus vulgaris*.
- 11 (9 BNF y 2 BF) resistentes a betalactámicos, aminoglicósidos y quinolonas. De los BNF, 6 son *P. aeruginosa*, 2 *Acinetobacter* spp y una *Pseudomonas putida*. Los dos bacilos fermentadores son dos *Enterobacter aerogenes*, de Toledo.
- 3 (BF) resistentes a betalactámicos, cotrimoxazol, y quinolonas. Son dos *E. coli* del hospital 12 de Octubre y un *E. coli* de Toledo.

Resistencia a dos grupos.- Son un total de 44 cepas. 28 (29.4%) BNF y 16 (2.4%) enterobacterias. Las podemos clasificar en los siguientes subgrupos:

Cepas resistentes a betalactámicos y aminoglucósidos. Hay 38 cepas. 26 BNF (21% de los BNF) y 12 Enterobacterias (5 *P. mirabilis*, 3 *E. coli*, 2 *Enterobacter* spp una *Serratia marcescens* y 1 *Citrobacter freundii*).

Cepas resistentes a betalactámicos y quinolonas. Son 4 bacterias. Dos *P. aeruginosa* (Coruña y Lérída), 1 *E. coli* (12 de Octubre) y una *Klebsiella pneumoniae* (Clínico de Madrid). Cepas resistentes a betalactámicos, cotrimoxazol y quinolonas. Es solo una *E. coli* del hospital 12 de Octubre de Madrid.

Cepas resistentes a aminoglucósidos y cotrimoxazol. Es un *E. coli* de Castellón.

Aunque no hemos incluido en el criterio de multirresistencia la resistencia conjunta a betalactámicos y cotrimoxazol, el número total de enterobacterias que tiene esta resistencia es de 140 (21.1%).

Tabla 10. Distribución por especies de los bacilos gram negativos

Enterobacterias	N.	%
<i>Escherichia coli</i>	401	51%
<i>Proteus mirabilis</i>	90	11%
<i>Salmonella enteritidis</i>	34	4%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32	4%
<i>Enterobacter cloacae</i>	24	3%
<i>Morganella morganii</i>	15	2%
<i>Citrobacter freundii</i>	14	2%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13	1%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	10	1%
<i>Proteus vulgaris</i>	8	1%
<i>Serratia marcescens</i>	7	0.6%
<i>Enterobacter agglomerans</i>	5	0.5%
<i>Serratia liquefaciens</i>	4	0.4%
<i>Klebsiella ozaenae</i>	3	0.4%
<i>Salmonella typhimurium</i>	3	0.4%
<i>Salmonella typhi</i>	2	0.2%
<i>Salmonella paratyphi B</i>	2	0.2%
<i>Citrobacter diversus</i>	1	0.1%
<i>Providencia rettgeri</i>	1	0.1%
<i>Providencia stuartii</i>	1	0.1%
<i>Shigella sonnei</i>	1	0.1%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	0.1%

Bacilos no fermentadores

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	89	11%
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> subs. <i>anitratus</i>	17	2%
Bacilos no fermentadores no identificados	3	0.4%
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	3	0.4%
<i>Pseudomonas putida</i>	3	0.4%
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	0.2%
<i>Pseudomonas cepacia</i>	1	0.1%
<i>Pseudomonas luteola</i>	1	0.1%

Otros bacilos

<i>Haemophilus influenzae</i>	2	0.2%
-------------------------------	---	------

Tabla 11. Distribución por géneros de los bacilos gram negativos

Enterobacterias

Genero	Frecuencia	%
<i>Escherichia</i>	401	60
<i>Klebsiella</i>	45	7
<i>Proteus</i>	98	15
<i>Enterobacter</i>	42	6
<i>Salmonella</i>	41	6
<i>Citrobacter</i>	15	2
<i>Morganella</i>	15	2
<i>Serratia</i>	11	2
<i>Providencia</i>	2	0.3
<i>Shigella</i>	1	0.1
<i>Yersinia</i>	1	0.1

Bacilos no fermentadores

<i>Pseudomonas</i>	97	81.5
<i>Acinetobacter</i>	19	16
No identificados	3	2.5

Tabla 12. Distribución de las especies más numerosas en las diferentes comunidades autónomas.

	<u>E.coli</u>	<u>P.mirabilis</u>	<u>Salmonella spp.</u>	<u>K.pneumoniae</u>	Otras ent.	<u>P.aeruginosa.</u>	<u>Acinetobac.</u>	Otros BNF	Total muestras
ANDALUCIA	52 (34%)	20 (13%)	11 (6%)	6 (4%)	20 (13%)	23 (15%)	10 (6.5%)	3 (2%)	154
ARAGON	7 (27%)	3 (11.5%)	1 (4%)	1 (4%)	5 (19%)	2 (8%)		1 (4%)	26
ASTURIAS	13 (46%)	5 (18%)		2 (7%)	6 (21%)	1 (4%)	1 (4%)		28
BALEARES	21(52.5%)	10 (25%)	4 (10%)	3 (7.5%)	2 (5%)				40
CANARIAS	19 (45%)	3 (7%)	1 (2%)	1 (2%)	5 (12%)	11 (26%)		1 (2%)	42
CANTABRIA	18 (51%)	5 (14%)	3 (9%)	4 (11%)	4 (11%)	3 (9%)			35
C. MANCHA	42 (61%)	3 (4%)	1 (1%)	1 (1%)	15 (22%)	5 (7%)		2 (3%)	68
C. LEON	21 (47%)	2 (4%)	4 (8.5%)	3 (6%)	4 (8.5%)	10 (21%)		2 (4%)	47
CATALUÑA	56 (55%)	9 (9%)	8 (8%)	3 (3%)	14 (14%)	8 (8%)		4 (4%)	102
EXTREMADURA	6 (40%)	4 (27%)	1 (7%)	1 (7%)	2 (14%)	1 (7%)			15
GALICIA	28 (55%)	8 (16%)	2 (4%)	2 (4%)	6 (12%)	2 (4%)	1 (2%)	1 (2%)	51
MADRID	37 (55%)	4 (6%)	1 (1.5%)	3 (5%)	7 (11%)	4 (6%)	3 (5%)	1 (1.5%)	67
MURCIA	24 (51%)	3 (6%)	2 (4%)		7 (15%)	8 (17%)	1 (2%)	2 (4%)	47
NAVARRA	11 (79%)				2 (14%)		1 (7%)		14
PAIS VASCO	13 (43%)	1 (3%)	1 (3%)		5 (17%)	7 (23%)	1 (3%)		30
RIOJA	3 (60%)	1 (20%)	1 (20%)						5
VALENCIA	28 (55%)	9 (18%)	1 (2%)	2 (4%)	6 (12%)	4 (8%)	1 (2%)		51

Tabla 13. Distribución de los bacilos gram negativos según el servicio de procedencia

SERVICIO	numero de muestras
Medicina interna	108 (13.%)
Pediatría	105 (12.7%)
Urología	89 (10.8%)
Unidad Cuidados Intensivos	89 (10.%)
Cirugía General	59 (7.1%)
Enfermos ambulantes	47 (5.7%)
Ginecología	33 (4%)
Nefrología	32 (3.8%)
Obstetricia	23 (2.8%)
Parapléjicos	23 (2.8%)
Urgencias	23 (2.8%)
Traumatología	20 (2.4%)
Otorrinolaringología	15 (1.8%)
Neurocirugía	14 (1.7%)
Aparato Digestivo	11 (1.3%)
Rehabilitación	10 (1.2%)
Cirugía Torácica	9 (1%)
Cirugía vascular	7
Consultas	6
Unidad de Quemados	6
Dermatología	5
Cirugía Plástica	4
Hematología	4
Personal del Hospital	4
Reumatología	4
Cirugía pediátrica	3
Alergia	2
Cardiología	2
Cirugía digestivo	2
Endocrino	2
Enfermedades infecciosas	2
Medicina de Familia	1
Microbiología	1
Oncología	1
Medicina Preventiva	1
Radioterapia	1
Recuperación	1
No consignado en la hoja	31

Tabla 14. Origen muestral de las cepas

Tipo de muestra	número de aislamientos
Urocultivos	452 (55.25%)
Origen respiratorio	92 (11.24%)
Heridas	50 (6.1%)
Coprocultivos	49 (6%)
Hemocultivos	36 (4.4%)
Muestras intraabdominales	32 (4%)
Abcesos	26 (3.1%)
Catéteres intravasculares	5 (0.6%)
Hueso (incluido osteomielitis)	1 (0.12%)
Otro tipo de muestras	76 (9.3)

Tabla 15. Frecuencia y porcentaje de la resistencia de las Enterobacterias (n=663).

Antibiótico	Frecuencia	%
Ampicilina	380	57.3
Amoxi-clavulánico	217	32.7
Ticarcilina	327	49.3
Cefazolina	108	16.3
Cefuroxima	86	13
Cefotaxima	16	2.4
Ceftazidima	14	2.1
Aztreonam	18	2.7
Imipenem	6	0.9
Gentamicina	33	5
Tobramicina	23	3.5
Cotrimoxazol	166	25.8
Acido nalidíxico	57	8.6
Ciprofloxacino	11	1.7

Tabla 16. Frecuencia y porcentaje de resistencias del genero Klebsiella (n=45).

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	36	84
Amoxi-clavulánico	6	14
Ticarcilina	41	93
Cefazolina	3	7
Cefuroxima	5	11
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	1	2
Imipenem	0	0
Gentamicina	3	7
Tobramicina	1	2
Cotrimoxazol	4	9
Acido nalidíxico	4	9
Ciprofloxacino	1	2

Tabla 17. Frecuencia y porcentaje de las resistencias en el género *Enterobacter* (n=42)

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	36	86
Amoxi-clavulánico	37	88
Ticarcilina	18	43
Cefazolina	37	88
Cefuroxima	21	50
Cefotaxima	14	35
Ceftazidima	13	32.5
Aztreonam	14	33
Imipenem	0	0
Gentamicina	5	12
Tobramicina	10	24
Cotrimoxazol	11	26
Acido nalidíxico	9	21
Ciprofloxacino	3	7

Tabla 18. Frecuencia y porcentaje de resistencias del genero Salmonella (n=40)

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	11	28
Amoxi-clavulánico	6	15
Ticarcilina	12	31
Cefazolina	2	5
Cefuroxima	4	10
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	0	0
Imipenem	0	0
Gentamicina	0	0
Tobramicina	0	0
Cotrimoxazol	1	2.5
Acido nalidíxico	3	8
Ciprofloxacino	0	0

Tabla 19. Frecuencia y porcentaje de resistencias del genero Citrobacter (n=14).

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	9	64
Amoxi-clavulánico	12	86
Ticarcilina	5	36
Cefazolina	5	36
Cefuroxima	4	28.5
Cefotaxima	1	7
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	0	0
Imipenem	0	0
Gentamicina	1	7
Tobramicina	0	0
Cotrimoxazol	1	7
Acido nalidíxico	1	7
Ciprofloxacino	0	0

Tabla 20. Frecuencia y porcentaje de resistencias del genero Serratia (n=11).

Antibiotico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	9	82
Amoxi-clavulánico	9	82
Ticarcilina	6	54.5
Cefazolina	10	91
Cefuroxima	9	82
Cefotaxima	1	9
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	1	9
Imipenem	0	0
Gentamicina	2	18
Tobramicina	3	27
Cotrimoxazol	3	27
Acido nalidíxico	2	18
Ciprofloxacino	0	0

Tabla 21. CMI 25, 50 y 90 de *E. coli* (n=397)

ANTIBIOTICO	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	4	>64	>64
Amoxi-Clavulánico	8	16	
Ticarcilina	2	>64	>512
Cefazolina	1	1	4
Cefuroxima	2	2	8
Cefotaxima	≤0.03	≤0.03	0.12
Ceftazidima	≤0.03	0.06	0.5
Aztreonam	≤0.03	≤0.03	0.12
Imipenem	0.25	0.25	0.25
Gentamicina	0.25	0.5	0.5
Tobramicina	0.5	0.5	1
Cotrimoxazol	<0.03	0.12	65
Acido nalidíxico	1	2	8
Ciprofloxacino	≤0.03	≤0.03	≤0.03

Tabla 22. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Escherichia coli*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	219	55
Amoxi-clavulánico	120	30
Ticarcilina	214	54
Cefazolina	19	5
Cefuroxima	18	4.5
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	1	0.25
Imipenem	0	0
Gentamicina	11	3
Tobramicina	5	1
Cotrimoxazol	116	29
Acido nalidíxico	31	8
Ciprofloxacino	6	1.5

Tabla 23. CMI 25, 50 y 90 de *Proteus mirabilis* (n=89)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	1	4	>64
Amoxi-clavulánico	1	1	16
Ticarcilina	0.5	1	128
Cefazolina	2	4	16
Cefuroxima	1	1	4
Cefotaxima	<0.03	<0.03	<0.03
Ceftazidima	<0.03	0.06	0.25
Aztreonam	<0.03	<0.03	0.06
Imipenem	0.5	1	4
Gentamicina	0.25	0.25	16
Tobramicina	0.25	0.25	2
Cotrimoxazol	<0.03	0.12	>64
Acido nalidíxico	4	4	8
Ciprofloxacino	<0.03	<0.03	<0.03

Tabla 24. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Proteus mirabilis*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	37	42
Amoxi-clavulánico	13	15
Ticarcilina	26	29
Cefazolina	9	10
Cefuroxima	7	8
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	1	1
Imipenem	3	3
Gentamicina	9	10
Tobramicina	3	3
Cotrimoxazol	24	27
Acido nalidíxico	6	7
Ciprofloxacino	0	0

Tabla 25. CMI 25, 50 y 90 de *Salmonella enteritidis* (n=33)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	1	2	>64
Amoxi-clavulánico	1	1	16
Ticarcilina	2	4	>64
Cefazolina	2	2	4
Cefuroxima	4	8	8
Cefotaxima	0.06	0.12	0.25
Ceftazidima	0.12	0.5	1
Aztreonam	<0.03	0.5	1
Imipenem	0.25	0.25	0.5
Gentamicina	0.25	0.25	0.5
Tobramicina	0.5	0.5	1
Cotrimoxazol	<0.03	<0.03	0.12
Acido nalidíxico	4	4	8
Ciprofloxacino	<0.03	<0.03	<0.03

Tabla 26. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Salmonella enteritidis*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	9	28
Amoxi-clavulánico	4	12.5
Ticarcilina	10	31
Cefazolina	1	3
Cefuroxima	2	6
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	0	0
Imipenem	0	0
Gentamicina	0	0
Tobramicina	0	0
Cotrimoxazol	1	3
Acido nalidíxico	2	6
Ciprofloxacino	0	0

Tabla 27. CMI 25, 50 y 90 del género *Klebsiella* (n=42)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	16	32	>64
Amoxi-clavulánico	2	2	4
Ticarcilina	>64	>64	256
Cefazolina	1	2	4
Cefuroxima	1	2	8
Cefotaxima	<0.03	<0.03	0.12
Ceftazidima	<0.03	0.25	0.5
Aztreonam	<0.03	<0.03	0.12
Imipenem	0.25	0.25	0.5
Gentamicina	0.12	0.25	0.5
Tobramicina	0.25	0.25	0.5
Cotrimoxazol	0.06	0.12	2
Acido nalidíxico	2	4	8
Ciprofloxacino	<0.03	<0.03	0.12

Tabla 28. CMI 25, 50 y 90 *Klebsiella pneumoniae* (n=32)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	16	32	>64
Amoxi-clavulánico	2	2	4
Ticarcilina	>64	>64	256
Cefazolina	1	2	4
Cefuroxima	1	2	8
Cefotaxima	<0.03	<0.03	0.12
Ceftazidima	<0.03	0.25	0.5
Aztreonam	<0.03	<0.03	0.12
Imipenem	0.25	0.25	0.5
Gentamicina	0.12	0.25	0.5
Tobramicina	0.25	0.25	0.5
Cotrimoxazol	0.06	0.12	2
Acido nalidíxico	2	4	8
Ciprofloxacino	<0.03	<0.03	0.12

Tabla 29. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Klebsiella pneumoniae*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	24	80
Amoxi-clavulánico	3	10
Ticarcilina	28	90
Cefazolina	1	3
Cefuroxima	3	10
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	0	0
Imipenem	0	0
Gentamicina	2	7
Tobramicina	1	3
Cotrimoxazol	2	7
Acido nalidíxico	2	7
Ciprofloxacino	1	3

Tabla 30. CMI 25, 50 y 90 de *Enterobacter cloacae* (n=24)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	16	32	>64
Amoxi-clavulánico	32	64	>64
Ticarcilina	1	2	256
Cefazolina	64	>64	>64
Cefuroxima	4	8	>64
Cefotaxima	0.06	0.25	64
Ceftazidima	0.12	0.5	64
Aztreonam	0.06	0.12	32
Imipenem	0.25	0.5	2
Gentamicina	0.25	0.25	0.5
Tobramicina	0.25	0.25	8
Cotrimoxazol	≤0.03	0.06	>64
Acido nalidíxico	2	2	8
Ciprofloxacino	≤0.03	≤0.03	0.12

Tabla 31. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Enterobacter cloacae*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	19	79
Amoxi-clavulánico	20	83
Ticarcilina	5	21
Cefazolina	20	83
Cefuroxima	8	33
Cefotaxima	5	21
Ceftazidima	5	21
Aztreonam	5	21
Imipenem	0	0
Gentamicina	2	8
Tobramicina	3	12.5
Cotrimoxazol	4	17
Acido nalidíxico	2	8
Ciprofloxacino	0	0

Tabla 32. CMI 25, 50 y 90 de *Morganella morganii* (n=15)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	32	64	>64
Amoxi-clavulánico	16	64	>64
Ticarcilina	1	2	8
Cefazolina	32	>64	>64
Cefuroxima	4	16	64
Cefotaxima	≤ 0.03	≤ 0.03	0.5
Ceftazidima	≤ 0.03	0.12	1
Aztreonam	≤ 0.03	≤ 0.03	0.06
Imipenem	2	4	8
Gentamicina	0.12	0.25	1
Tobramicina	0.25	0.25	1
Cotrimoxazol	0.06	0.06	>64
Acido nalidíxico	0.5	2	8
Ciprofloxacino	≤ 0.03	≤ 0.03	0.06

Tabla 33. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Morganella morganii*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	13	87
Amoxi-clavulánico	12	80
Ticarcilina	1	7
Cefazolina	13	87
Cefuroxima	10	67
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	0	0
Imipenem	2	13
Gentamicina	1	7
Tobramicina	1	7
Cotrimoxazol	3	20
Acido nalidíxico	1	7
Ciprofloxacino	1	7

Tabla 34. CMI 25, 50 y 90 de *Citrobacter freundii* (n=14)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	8	16	>64
Amoxi-clavulánico	32	64	>64
Ticarcilina	1	4	>64
Cefazolina	2	8	>64
Cefuroxima	2	2	32
Cefotaxima	0.6	0.12	8
Ceftazidima	0.12	0.25	1
Aztreonam	≤0.03	0.06	4
Imipenem	0.25	0.5	2
Gentamicina	0.25	0.25	0.5
Tobramicina	0.25	0.25	1
Cotrimoxazol	≤0.03	≤0.03	0.12
Acido nalidíxico	1	2	8
Ciprofloxacino	≤0.03	≤0.03	0.06

Tabla 35. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Citrobacter freundii*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	8	57
Amoxi-clavulánico	12	86
Ticarcilina	4	28.5
Cefazolina	5	38
Cefuroxima	3	21
Cefotaxima	1	7
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	0	0
Imipenem	0	0
Gentamicina	1	7
Tobramicina	0	0
Cotrimoxazol	1	7
Acido nalidíxico	1	7
Ciprofloxacino	0	0

Tabla 36. CMI 25, 50 y 90 de *Enterobacter aerogenes* (n=13)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	64	>64	>64
Amoxi-clavulánico	32	64	>64
Ticarcilina	>64	>64	>512
Cefazolina	>64	>64	>64
Cefuroxima	4	>64	>64
Cefotaxima	0.25	16	64
Ceftazidima	0.25	16	64
Aztreonam	0.25	8	32
Imipenem	0.25	0.5	1
Gentamicina	0.25	0.25	2
Tobramicina	0.5	0.5	32
Cotrimoxazol	0.12	0.5	>64
Acido nalidíxico	1	2	>64
Ciprofloxacino	≤0.03	≤0.03	8

Tabla 37. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Enterobacter aerogenes*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	12	92
Amoxi-clavulánico	12	92
Ticarcilina	10	77
Cefazolina	12	92
Cefuroxima	9	69
Cefotaxima	7	54
Ceftazidima	8	61
Aztreonam	6	46
Imipenem	0	0
Gentamicina	0	0
Tobramicina	4	31
Cotrimoxazol	4	31
Acido nalidíxico	3	23
Ciprofloxacino	2	15

Tabla 38. CMI 25, 50 y 90 de *Klebsiella oxytoca* (n=10)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI90
Ampicilina	16	16	>64
Amoxi-clavulánico	2	2	16
Ticarcilina	32	64	128
Cefazolina	2	2	4
Cefuroxima	1	2	4
Cefotaxima	≤0.03	≤0.03	0.12
Ceftazidima	≤0.03	≤0.03	0.25
Aztreonam	≤0.03	0.06	0.5
Imipenem	0.25	0.25	0.5
Gentamicina	0.25	0.25	0.25
Tobramicina	0.25	0.25	0.25
Cotrimoxazol	0.25	≤0.03	0.25
Acido nalidíxico	1	2	8
Ciprofloxacino	≤0.03	≤0.03	≤0.03

Tabla 39. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Klebsiella oxytoca*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	9	90
Amoxi-clavulánico	2	20
Ticarcilina	10	100
Cefazolina	1	10
Cefuroxima	1	10
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	1	10
Imipenem	0	0
Gentamicina	1	10
Tobramicina	0	0
Cotrimoxazol	1	10
Acido nalidíxico	1	10

Tabla 40. CMI 25, 50 y 90 de *Proteus vulgaris* (n=8)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	32	32	>64
Amoxi-clavulánico	4	8	16
Ticarcilina	2	4	513
Cefazolina	64	64	>64
Cefuroxima	12	32	>64
Cefotaxima	≤ 0.03	≤ 0.03	0.12
Ceftazidima	≤ 0.03	0.06	0.12
Aztreonam	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03
Imipenem	1	1	4
Gentamicina	0.12	0.25	32
Tobramicina	0.25	0.25	4
Cotrimoxazol	0.06	0.25	>64
Acido nalidíxico	2	2	8
Ciprofloxacino	≤ 0.03	≤ 0.03	≤ 0.03

Tabla 41. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Proteus vulgaris*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	8	100
Amoxi-clavulánico	1	12.5
Ticarcilina	2	25
Cefazolina	8	100
Cefuroxima	7	87.5
Cefotaxima	0	0
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	0	0
Imipenem	1	12.5
Gentamicina	1	12.5
Tobramicina	0	0
Cotrimoxazol	2	25
Acido nalidíxico	0	0
Ciprofloxacino	0	0

Tabla 42. CMI 25, 50 y 90 de *Serratia marcescens* (n=7)

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	32	>64	>64
Amoxi-clavulánico	32	32	>64
Ticarcilina	2	32	513
Cefazolina	>64	>64	>64
Cefuroxima	32	64	>64
Cefotaxima	0.06	0.25	64
Ceftazidima	0.12	0.12	4
Aztreonam	≤0.03	0.12	16
Imipenem	0.5	0.5	1
Gentamicina	0.25	0.25	>64
Tobramicina	0.5	1	>64
Cotrimoxazol	≤0.03	0.06	>64
Acido nalidíxico	1	2	>64
Ciprofloxacino	≤0.03	0.06	0.12

Tabla 43. Frecuencia y porcentaje de resistencias de *Serratia marcescens*

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	6	86
Amoxi-clavulánico	6	86
Ticarcilina	4	57
Cefazolina	7	100
Cefuroxima	7	100
Cefotaxima	1	14
Ceftazidima	0	0
Aztreonam	1	14
Imipenem	0	0
Gentamicina	1	14
Tobramicina	2	28.5
Cotrimoxazol	1	14
Acido nalidíxico	1	14
Ciprofloxacino	0	0

BACILOS NO FERMENTADORES**Tabla 44. Frecuencia y porcentajes de resistencia de los bacilos no fermentadores.****Numero de cepas: 95**

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	95	100
Ticarcilina	55	58
Cefazolina	93	98
Cefuroxima	89	94
Cefotaxima	66	70
Ceftazidima	13	14
Aztreonam	30	32
Imipenem	15	16
Gentamicina	41	43
Tobramicina	22	23
Cotrimoxazol	83	87
Acido Nalidíxico	95	100
Ciprofloxacino	8	8

Tabla 45 CMI 25, 50 y 90 de *Pseudomonas aeruginosa* (73 cepas).

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	>64	>64	>64
Amoxi-clavulánico	>64	>64	>64
Ticarcilina	16	32	128
Cefazolina	>64	>64	>64
Cefuroxima	>64	>64	>64
Cefotaxima	16	16	>64
Ceftazidima	1	1	16
Aztreonam	4	4	32
Imipenem	2	4	16
Gentamicina	2	4	>64
Tobramicina	0.5	1	8
Acido nalidíxico	64	>64	>64
Ciprofloxacino	0.12	0.12	4

Tabla 46. Frecuencia y porcentajes de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*

(73 cepas)

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	73	100
Ticarcilina	42	57.5
Cefazolina	73	100
Cefuroxima	71	97
Cefotaxima	51	75
Ceftazidima	7	10
Aztreonam	16	24
Imipenem	13	20
Gentamicina	27	37
Tobramicina	12	16
Acido nalidíxico	73	100
Ciprofloxacino	5	7

Tabla 47. CMI 25, 50 y 90 de *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratus*.

Antibiótico	CMI 25	CMI 50	CMI 90
Ampicilina	32	>64	>64
Amoxi-clavulánico	8	32	>64
Ticarcilina	8	>64	>512
Cefazolina	>64	>64	>64
Cefuroxima	16	64	>64
Cefotaxima	8	32	64
Ceftazidima	4	8	32
Aztreonam	16	32	64
Imipenem	0.5	1	4
Gentamicina	4	>64	>64
Tobramicina	1	2	32
Cotrimoxazol	0.12	0.25	64
Acido nalidíxico	2	8	>64
Ciprofloxacino	≤0.03	0.25	8

Tabla 48. Frecuencia y porcentajes de resistencia en *Acinetobacter* var. *anitratus*. (12)

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	12	100
Ticarcilina	7	58
Cefazolina	11	92
Cefuroxima	10	83
Cefotaxima	8	73
Ceftazidima	5	45
Aztreonam	10	83
Imipenem	1	8
Gentamicina	9	75
Tobramicina	6	50
Cotrimoxazol	5	41
Acido nalidíxico	12	100
Ciprofloxacino	2	17

Tabla 49. Frecuencia y porcentajes de resistencia en BGN-NF
Diferentes a *P. aeruginosa* y *A. calcoaceticus* (10 cepas)

Antibiótico	Frecuencia	Porcentaje
Ampicilina	10	100
Ticarcilina	6	60
Cefazolina	9	90
Cefuroxima	8	80
Cefotaxima	7	70
Ceftazidima	1	10
Aztreonam	4	40
Imipenem	1	10
Gentamicina	5	50
Tobramicina	4	40
Acido nalidíxico	10	10
Ciprofloxacino	2	20

Tabla 50. Frecuencia y porcentajes de resistencia de los Bacilos gram negativos

	ENTEROB.	%	BGNNF	%	TOTAL	%
	(663)		(95)		758	
Ampicilina	380	58	95	100	480	765
Amoxi-Clavul.	217	33	--	--	--	----
Ticarcilina	327	49	55	58	382	50
Cefazolina	108	16	93	98	201	265
Cefuroxima	86	13	89	94	175	23
Cefotaxima	16	2.5	66	69.5	82	11
Ceftazidima	14	2	13	14	27	4
Aztreonam	18	3	30	32	48	6
Imipenem	6	1	15	16	21	3
Gentamicina	33	5	41	43	74	10
Tobramicina	23	3.5	22	23	45	6
Cotrimoxazol	166	26	--	--	--	----
A. Nalidixico	57	9	86	90.5	143	20
Ciprofloxacino	11	2	8	8	19	25

Tabla 51. Distribución de las cepas multirresistentes según los grupos

Grupos	n° cepas
B, A, C, Q	1
B, A, C	22
B, A, Q	11
B, C, Q	3
B, A	38
B, Q	4
C, Q	1
A, C	1
Total	81

Leyenda.- A: aminoglucósidos; B: betalactámicos; C: cotrimoxazol; Q: quinolonas.

DISCUSSION

Incidencia de las diferentes especies.

Dado que en este estudio no hemos tenido en cuenta los bacilos gram positivos, no nos es posible comparar nuestros porcentajes de aislamientos de hemocultivos, urocultivos, etc. con trabajos previos. Sin embargo la mayor incidencia de *E.coli* (50%) con respecto al resto de enterobacterias si se refleja en otros trabajos (Allen y cols., 1981; Mayer y Zinner, 1985). Por la misma razón no podemos saber la importancia real de los bacilos gram negativos en nuestro país ya que no contamos con el número total de aislamientos en cada hospital. Sí podemos comparar la resistencia de nuestros bacilos gram negativos con otros datos ya que al igual que en nuestros resultados, figuran como porcentajes de resistencia, y por tanto, es posible comparar porcentajes entre sí.

Resistencia de las enterobacterias

La resistencia de nuestras enterobacterias (Tabla 15) a la cefuroxima es notablemente inferior a la encontrada en USA (Tabla 6) y también es inferior nuestro porcentaje de resistencia a la ceftazidima con respecto a Centro Europa (Tabla 6). La resistencia a gentamicina es mayor en nuestras cepas que en Centro Europa (5 y 1% respectivamente) así como para ciprofloxacino (2 y 0% respectivamente). Desgraciadamente no podemos comparar por falta de datos el resto de antibióticos.

Distribución de las resistencias de las enterobacterias según la comunidad autónoma.

En un estudio como este nos interesa saber la resistencia global en el País en un momento dado pero además es interesante conocer si existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en la sensibilidad de los microorganismos aislados en las diferentes comunidades autónomas comparando con el resto de España (ver resultados). Las diferencias de resistencia entre dos centros diferentes se deben a multitud de factores (Finland, 1972). En nuestro caso podemos tratar de explicar el aumento de resistencias que aparecen en Castilla-La Mancha. Esta comunidad presenta un número de cepas resistentes mayor al esperado para

ticarcilina ($p < 0.05$), ceftazidima ($p < 0.05$), tobramicina ($p < 0.05$), ciprofloxacino ($p < 0.001$) y cotrimoxazol ($p \leq 0.01$). Presenta un aumento de la resistencia para 5 antibióticos de los 14 probados.

Una de las condiciones de inclusión de los hospitales para este trabajo, era, que fueran hospitales no especializados. Es decir, que no se atendiera a un tipo de patología especial. Sin embargo, en el área de Salud del Hospital de Toledo (Castilla-La Mancha), se incluye el Centro Nacional de Paraplégicos. La patología especial de este centro y su tratamiento es el responsable de este aumento de cepas resistentes en Castilla-La Mancha. Esta aseveración la podemos hacer ya que todas las cepas resistentes a ceftazidima, tobramicina, y ciprofloxacino, de la comunidad Castilla-La Mancha, provienen de muestras de urocultivos del servicio de paraplégicos de Toledo.

No podemos explicar las diferencias en el resto de las Comunidades y sobre todo reseñar que junto a la citada Castilla-La Mancha, la única Comunidad con cepas resistentes a ciprofloxacino es Madrid (hospital 12 de Octubre y Clínico).

RESISTENCIA A BETALACTAMICOS

Existen tres mecanismos fundamentales de resistencia a antibióticos betalactámicos. Producción de enzimas que hidrolizan el anillo betalactámico (betalactamasas), impermeabilidad de la pared y modificación de las proteínas fijadoras de la penicilina (PBP). Por su importancia clínica el mecanismo de resistencia más interesante es la producción de betalactamasas.

La producción de betalactamasas esta codificada genéticamente en plásmidos o en el cromosoma. Ambos mecanismos de codificación son muy diferentes entre sí lo que nos permite hacer una primera clasificación de la producción de las betalactamasas.

Betalactamasas cromosómicas

Las betalactamasas cromosómicas se producen de forma constitutiva o inducible y su expresión es diferente en las distintas especies de bacilos negativos (Segura, 1989) lo que nos permite agruparlos en tres grupos (Tabla 3). Estas betalactamasas no se ven inhibidas por la presencia de ácido clavulánico.

Las cepas productoras de las betalactamasas del grupo I son, en general, sensibles a los betalactámicos pero ocasionalmente pueden conferir resistencia a determinados preparados (ampicilina, algunas cefalosporinas de primera generación).

El grupo II lo representa el género *Klebsiella*. La betalactamasa le confiere resistencia a ampicilina, carboxipenicilinas (ticarcilina) y a veces ureidopenicilinas. Las cepas de *Klebsiella oxytoca* hiperproductoras de la enzima cromosómica se muestran resistentes también a algunas cefalosporinas e incluso al aztreonam (Roy, 1985). En nuestras cepas de *K.pneumoniae* y *K.oxytoca* (Tabla 29 y Tabla 39) efectivamente, el nivel de resistencia es muy elevado a ampicilina (80 y 90% respectivamente) y a ticarcilina (90 y 100%), parecido a los porcentajes encontrados en Europa (Tabla 6). Este patrón de resistencias haría pensar la prevalencia de las enzimas cromosómicas. Sin embargo la baja resistencia a amoxicilina-clavulánico 10 y 20% respectivamente (muy parecido al de Inglaterra (Tabla 6), podría descartar la posibilidad de una mayoría del enzima tipo I (cromosómico), inclinándonos a pensar en una enzima plasmídica, que confiera moderados niveles de resistencia a las cefalosporinas de 1ª y 2ª generación pero inexistente a las de tercera. Efectivamente solo existen tres cepas de *K.pneumoniae* y una cepa de *K.oxytoca* resistentes a ampicilina, amoxicilina-clavulánico, y ticarcilina por lo que es casi seguro que estas cepas pudieran tener una betalactamasa cromosómica. De estas cepas una *K.pneumoniae* es resistente a las cefalosporinas de 1ª y 2ª generación y *K.oxytoca* es además resistente al aztreonam.

A excepción de la cepa citada no existe resistencia a cefalosporinas de 3ª generación, aztreonam e imipenem.

El grupo tercero, aquellas cepas que tienen una betalactamasa inducible y muy activa, está compuesto por los siguientes géneros y especies: *Enterobacter* spp, *Serratia* spp, *Providencia* spp, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, y *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter* spp.

Género *Enterobacter*.- Los integrantes del género *Enterobacter*, se encuentran entre los microorganismos más resistentes de las enterobacterias en este estudio.

A nivel de género, nuestras cepas son ligeramente más sensibles a la ampicilina que en el norte de Europa (Kresken, 1984) y mucho más resistentes a cefotaxima, ceftazidima y aztreonam y un nivel muy parecido para imipenem (Tabla 17). Sin embargo el nivel de resistencia es muy parecido al encontrado en el Hospital Puerta de Hierro en 1985 (Dámaso, 1985). Con respecto a las especies, *E. cloacae* es mucho más sensible a la cefuroxima que en Inglaterra (Phillips, 1988), mucho más resistente a la cefazolina y con unos valores parecidos para la amoxicilina-clavulánico (Tabla 31). Los niveles para la cefotaxima son parecidos a los obtenidos en Venezuela (Murillo, 1986). *E. aerogenes* (Tabla 37) es casi el doble de resistente en nuestro estudio para cefuroxima y ceftazidima que en Inglaterra (Phillips, 1988), y seis veces más resistente para cefotaxima que en Venezuela (Murillo, 1986). La resistencia para amoxicilina-clavulánico es parecida a la de estudios previos (Phillips, 1988).

En general se considera que todos los *Enterobacter* spp son resistentes a la ampicilina (Minami, 1980). Los porcentajes de resistencia mayores para amoxicilina-clavulánico que para ampicilina se explican porque tanto la amoxicilina como el ácido clavulánico son buenos inductores de la betalactamasa cromosómica (Minami, 1980). Llama también la atención la mayor resistencia a cefazolina que a ampicilina. En realidad ambos antibióticos utilizan la vía de las porinas para penetrar en la célula pero la ampicilina también puede penetrar por otras vías (Sawai, 1982). Si a esto añadimos que la afinidad de la betalactamasa de los *Enterobacter* spp es mayor por las cefalosporinas que por las penicilinas, incluida la ticarcilina, (Neu, 1972), podremos resolver la cuestión de la mayor resistencia a cefalosporinas.

La betalactamasa cromosómica es capaz de hidrolizar casi todos los betalactámicos (Then, 1987). Por lo tanto los mutantes establemente desrreprimidos tendrán una alta resistencia a estos antibióticos. Conociendo que la capacidad de que se produzca una mutación que convierta a los *Enterobacter* spp en establemente desrreprimidas es la mayor entre los bacilos gram negativos (Andersen, 1989) nos explica la alta resistencia de este género con respecto al resto de enterobacterias.

Un factor que hay que añadir a la alta resistencia a los betalactámicos, es la composición de la pared. Se sabe que *E.cloacae* tiene unos poros más estrechos que el formado por las porinas en *E.coli* (Vu, 1985) y que existen mutantes de *E.aerogenes* que pierden totalmente una de las porinas confiriendo resistencia a cefotaxima e imipenem (Hopkins, 1990). Aun así, el imipenem es el betalactámico que mejor penetra por la pared y por lo tanto las resistencias son muy bajas (Vu, 1985).

Género *Serratia*.- El representante más importante de este género es la *Serratia marcescens*. Al igual que el género *Enterobacter*, existen múltiples resistencias a los distintos antimicrobianos (Tabla 43). El porcentaje de resistencias de nuestras cepas es muy parecido al del resto de la bibliografía consultada (Tabla 6). Nuestras cepas de *Serratia marcescens* presentan el nivel máximo de resistencia a cefuroxima (100%) y cefazolina (100%). Los niveles de resistencia al resto de penicilinas también es muy alto (Tabla 43). Existe una cepa resistente a aztreonam y cefotaxima pero es sensible a ceftazidima e imipenem.

Al igual que en el género *Enterobacter*, la resistencia a cefalosporinas es mayor que a penicilinas debido a la mayor afinidad de la betalactamasa cromosómica por las primeras.

Serratia marcescens puede presentar dos modelos de resistencia (Tajima y cols, 1981). En el primero la única resistencia se debería a la betalactamasa cromosómica que inactivaría preferentemente a las cefalosporinas. En el segundo modelo existiría además una betalactamasa plasmídica que conferiría mayor resistencia a las penicilinas. Con nuestros datos no nos es posible asegurar ante cual de los dos modelos nos enfrentamos.

Se considera que la resistencia se establece por hidrólisis de todos los betalactámicos a excepción del aztreonam que se hidroliza pero también se mantiene inactivo por inmovilización (Hechler y cols, 1989). Se sabe que la resistencia se debe a un aumento de la síntesis de la betalactamasa y que además esta enzima es capaz de hidrolizar indistintamente varios betalactámicos (Hechler y cols, 1989).

Existe una cepa resistente a cefotaxima pero no a ceftazidima. Esto se podría explicar conociendo que hidrólisis de ambos antibióticos es muy bajo pero la velocidad de hidrólisis de la cefotaxima es cuatro veces superior a la de la cefazolina (Labia, 1986).

La alta resistencia a los betalactámicos no solo se explica por la elaboración de las betalactamasas y se ha comprobado que la impermeabilidad de la pared juega también un papel fundamental (Sanders, 1986; Guttman y cols, 1988). Esta impermeabilidad también es importante en la resistencia a cefotaxima y ceftazidima (Hechler y cols, 1989).

Morganella morganii. - Al igual que el resto de microorganismos de este grupo, la *Morganella* presenta una alta resistencia a la ampicilina, amoxicilina-clavulánico y cefalosporinas de 1ª y 2ª generación (Tabla 33) en concordancia con datos previos (Tabla 6). Solo hay una cepa (7%) resistente a la ticarcilina y no existen resistencias a cefalosporinas de 3ª generación y aztreonam. Hay que significar que existen dos cepas (13%) resistentes al imipenem.

Nuestras cepas son más sensibles a la cefuroxima que las de Inglaterra (Tabla 6), y no existe resistencia a la cefotaxima contrariamente a lo encontrado por Dámaso en el Hospital Puerta de Hierro (17% de resistencia).

Citrobacter freundii. A pesar de pertenecer al mismo género, *C. freundii* presenta un patrón de resistencia totalmente distinto a *C. diversus* (Gootz, 1984). En nuestro trabajo solo tenemos un *C. diversus*. Este *C. diversus* es resistente a ampicilina, ticarcilina y cefuroxima y sensible al resto de antibióticos.

Los porcentajes de resistencia a ampicilina y amoxicilina-clavulánico son muy elevados (Tabla 35) al igual que en el Norte de Europa e Inglaterra respectivamente (Tabla 6). Nuestros niveles de resistencia a la cefuroxima son la mitad de los encontrados en Inglaterra (Phillips, 1988). Con respecto al resto de los antibióticos el patrón de resistencia es típicamente cromosómico con la notoriedad de la alta inducción de la combinación amoxicilina-clavulánico ya que la resistencia es del 86% (12 cepas) con respecto al 57% a ampicilina (8 cepas). Existe una cepa (7%) resistente a la cefotaxima. Este porcentaje está de acuerdo con datos previos (Kresken, 1983) y es conocido que este antibiótico se puede hidrolizar por la betalactamasa cromosómica (Gootz, 1984).

P. vulgaris

Al igual que el resto del grupo el patrón de resistencia es aparentemente típicamente cromosómico (Tabla 41) y en concordancia con datos previos (Tabla 6). Sin embargo, nos llama mucho la atención el que exista solo una cepa (12.5%) resistente a amoxicilina-clavulánico.

Efectivamente *P. vulgaris* tiene la característica única de este grupo que a pesar de ser una betalactamasa cromosómica inducible, se inhibe por la presencia de ácido clavulánico (Aspiotis, 1986; Labia, 1986).

La hidrólisis de los betalactámicos en *P. vulgaris* depende de la cantidad de enzima producida y no de la afinidad de las betalactamasas por un substrato u otro. Así pues, en teoría, si una especie tiene una elevada producción de una betalactamasa, sería capaz de hidrolizar cualquier betalactámico (Okonogi, 1986). No obstante no tenemos cepas resistentes a cefotaxima, ceftazidima y aztreonam.

Hay una cepa resistente al imipenem. Esta resistencia debe ser por una alteración de la pared ya que se ha descrito que la betalactamasa de *P. vulgaris* se inactiva por el imipenem (Hashizume y cols, 1984).

Pseudomonas aeruginosa

P.aeruginosa es un bacilo gram negativo no fermentador con la capacidad de crecer en el agua con el anhídrido carbónico atmosférico como única fuente de carbono (Cross, 1985). Si a esto añadimos su gran resistencia a los antimicrobianos comunes (Cullman, 1987) nos daremos cuenta de la importancia de este patógeno. La incidencia de *P.aeruginosa* es todavía mayor en pacientes con quemaduras, fibrosis quística, inmunosupresión (sobre todo granulocitopenia), y heridas traumáticas.

La resistencia de esta bacteria a los betalactámicos se debe a alteraciones de la pared y a la producción de betalactamasas.

La permeabilidad de la membrana externa de *P.aeruginosa* a estos antibióticos es de 100 a 500 veces menor que en *E.coli*. (Yoshimura y Nikaido, 1982). La mutación que produce la pérdida de la proteína de 48-49 kilodalton de la membrana externa, hace a la *P.aeruginosa*, resistente al imipenem (Lynch y cols., 1987). En nuestras cepas la resistencia al imipenem es del 20% (Tabla 45) ligeramente superior al obtenido en el estudio multicéntrico de Kresken 15% (Kresken y cols., 1983). Las cepas resistentes al imipenem presentan dos patrones (Trias y cols, 1989): en uno solo existe resistencia al imipenem (3 cepas) y en otras existe resistencia cruzada con otros betalactámicos (10 cepas). El primero se explicaría por la mutación de la pared, y el segundo por la producción de una betalactamasa inducible más alteraciones en la permeabilidad (Trias y cols, 1989).

Casi todas las *P.aeruginosa* producen una betalactamasa cromosómica inducible. La desrepresión estable de esta enzima produce resistencia a las cefalosporinas y ureidopenicilinas pero no al imipenem (Cullmann, 1987). A diferencia de las betalactamasas de las enterobacterias, la enzima de la *Pseudomonas*, no es inducible por el ácido clavulánico. Otra de las características es que la resistencia al aztreonam no está mediada por la beta lactamasa inducible, lo que sugiere que existe una betalactamasa "propia" para el aztreonam (Cullmann y cols, 1987). Nosotros encontramos 16 (24%) cepas resistentes al aztreonam. En

Canadá (Henry, 1985) encuentra el 35%. De las cepas resistentes 3 solo presentan resistencia al aztreonam y no al resto de betalactámicos antipseudomonas (ticarcilina, ceftazidima e imipenem).

La betalactamasa cromosómica es capaz de hidrolizar la ceftazidima (King y cols, 1983). Nosotros tenemos 7 (10%) cepas resistentes a esta cefalosporina. Estos datos son muy superiores a los encontrados en el Norte de Europa (2%) y en Centro Europa (4%) (Tabla 6). La ticarcilina se puede hidrolizar bien por betalactamasas plasmídicas o cromosómicas (Cullmann, 1987). Esta doble posibilidad explica la alta resistencia a ticarcilina (57.5%) si tenemos en cuenta que las *P.aeruginosa* tienen con gran frecuencia enzimas del tipo PSE-1 o PSE-4 que hidrolizan este antibiótico (Matthew, 1979).

Acinetobacter calcoaceticus var. *anitratus*

A pesar de ser uno de los patógenos con menor incidencia de infección nosocomial (Bergogne-Berezin, 1985) no por ello deja de tener importancia cuando se presenta en una infección debido a su alta resistencia. En Francia (Bergogne-Berezin, 1985) en 1985 este microorganismo presentaba un 97% de resistencia a ampicilina, 75% a carbenicilina, 96% a cefotaxima y 42 % a ceftazidima. En Canadá en el mismo año (Henry, 1985) la cifra era de 36% a ticarcilina 100% a aztreonam y 0% a imipenem. En datos previos en nuestro País la cifra era de 60% de resistencia a cefotaxima (Dámaso, 1985). Nuestras cifras de ampicilina (Tabla 48) son parecidas a las de Francia y las de ticarcilina son muy superiores a las de Canadá. Con respecto a la cefotaxima nuestras resistencias (73%) son inferiores a las de Francia pero superiores a las de Dámaso en el Hospital Puerta de Hierro. La actividad de la ceftazidima es muy parecida en Francia y en nuestro estudio multicéntrico (42 y 45% de resistencias respectivamente). La resistencia a aztreonam es muy elevada en Canadá (100%) y en nuestras cepas (83%). El imipenem es el betalactámico más activo con pocas resistencias tanto en estudios previos como en nuestras cepas (una sola cepa resistente, 8%).

Las cepas de *Acinetobacter* producen betalactamasas cromosómicas tipo I inducibles (cefalosporinas) (Medeiros, 1984). Esta enzima es muy parecida a la producida por *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Citrobacter* spp (Joly-Guillon, 1987). La resistencia a ampicilina, carboxi y ureidopenicilinas

es debida a la presencia de betalactamasas tipo TEM 1 (Goldstein y cols., 1983) o TEM 2 (Devaud y cols, 1982).

En un estudio en Francia (Joly-Guillon y cols, 1987) un 67% de las cepas presentaba la enzima TEM 1, un 30% de las cepas tenía actividad cefalosporinasa y un 7% tenía una cefalosporinasa establemente desreprimida (constitutiva). El 23% de las cepas presentaban estas dos últimas enzimas. La alta prevalencia de la TEM-1 junto a la presencia de un nueva enzima tipo CARB-4 permite sugerir a estos autores que la resistencia de *Acinetobacter* spp es sobre todo plasmídica. Así pues, una vez más, al igual que en *Pseudomonas* spp, la combinación de mecanismos de resistencia, permite a los *Acinetobacter* spp presentar unos altísimos niveles de resistencia a los betalactámicos a excepción del imipenem.

Papel de las betalactamasas inducibles en la resistencia a los betalactámicos.

Las bacterias del tercer grupo producen una betalactamasa tipo I de forma inducible. Esto quiere decir que en condiciones basales, la producción de la enzima es muy escasa, pero en presencia de un inductor la síntesis aumenta notablemente (Richmond y Sykes, 1973). Hay muchas penicilinas y cefalosporinas que pueden actuar como inductores. Con arreglo a esto se puede hablar de antibióticos que son muy buenos inductores (cefotaxima, imipenem), malos inductores (cefotaxima, ceftazidima y aztreonam) o que no afectan a la inducción. La eficacia de la inducción depende también de la cepa bacteriana y de la concentración del inductor (Rolinson, 1989). En la inducción el aumento de la producción de beta lactamasa es un fenómeno temporal y en ausencia del antibiótico esta producción cesa por lo que no existen repercusiones de resistencia a largo plazo. Sin embargo, en los patógenos que producen la betalactamasa del tipo I, pueden aparecer resistencias durante el tratamiento. Esto se produce como consecuencia de la selección de mutantes establemente desreprimidas, es decir, que producen la enzima de forma constitutiva. Debido a la producción masiva de la betalactamasa, estas cepas pueden hacerse resistentes a numerosas penicilinas y cefalosporinas, incluso de tercera generación (Sanders, 1983). Las mutantes establemente desreprimidas se producen con una alta probabilidad en *Enterobacter* spp, y *P.aeruginosa*. Estas mutantes se seleccionan más fácilmente si el inductor es de carácter débil y no es muy estable ante a la hidrólisis de la enzima. Por lo tanto la aparición de resistencias se debe a una selección de mutantes y no como resultado de la inducción. No obstante, ¿que papel juega la inducción en la clínica?. Si utilizamos una penicilina o una cefalosporina muy inductora, pero hidrolizable por la enzima, la actividad del antibiótico disminuirá. La ampicilina es un buen ejemplo en *E.cloacae* y por eso tenemos unos porcentajes muy altos de resistencia (79% en nuestras cepas). La inducción también tiene mucha importancia cuando se emplean dos betalactámicos. Si se utiliza un inductor potente con uno débil e hidrolizable, se produce un antagonismo. El imipenem o la cefoxitina pueden antagonizar a las cefalosporinas de tercera generación o las ureidopenicilinas. Existe también antagonismo en la combinación ticarcilina-clavulánico (Livermore y cols, 1989). Todo ello, sin embargo, en el peor de los casos conduciría a un fallo terapéutico pero no a la aparición de resistencias.

¿Que importancia tienen las mutantes establemente desrreprimidas "in vivo"? Las cepas establemente desrreprimidas pueden ser seleccionadas "in vitro" mediante la adición de inductores débiles y lábiles en el medio de cultivo. Este proceso de selección es un caso simple de "supervivencia del mejor": solo sobreviven las mutantes (Livermore, 1987). Ahora bien ¿que pasa *in vivo*? Existen muchas publicaciones sobre esta selección "in vivo" (véase revisión en Sanders y Sanders, 1987). La secuencia típica de acontecimientos es que se administra a un paciente con un microorganismo con betalactamasa inducible un antibiótico débil y lábil; a continuación se aislan mutantes establemente desrreprimidas, y finalmente estos constituyen la población bacteriana global del foco de infección. Este es un problema sobretudo en *P.aeruginosa* y *E.cloacae* (Livermore, 1987). No obstante, la proporción de cepas desrreprimidas existentes en una población está en función de la cepa y no del antibiótico. Entonces, ¿qué frecuencia podemos encontrar en la clínica?. Aunque es difícil hacer esta estimación "in vivo", se calcula que en América la aparición de resistencias durante el tratamiento puede afectar de 1/3 a 1/2 de los pacientes infectados con *P.aeruginosa*, *Enterobacter* spp y *Serratia marcescens* (Sanders y Sanders, 1987) y en Europa la proporción puede llegar al 85% de las *Pseudomonas* spp y un 73% de *Enterobacter* spp (European Study Group on Antibiotic Resistance, 1987).

Vemos así, que el problema de la aparición de resistencias debido a las betalactamasas del tipo I, es muy importante y puede provocar numerosos fallos terapéuticos. Si a esto añadimos las dificultades que existen para detectar las cepas productoras de betalactamasas inducibles con las técnicas de rutina (Livermore, 1987), comprenderemos la dificultad en predecir estos fallos.

¿Que deberemos hacer para evitar el problema clínico de estas resistencias?. En primer lugar observar bien los antibiogramas de difusión disco/placa y sospechar de cualquier reducción en el halo de los betalactámicos en los géneros señalados teniendo mucho cuidado con la interpretación de los antibiogramas de microdilución y otros métodos automáticos (Sanders y Sanders, 1987). En segundo lugar restringir al máximo la utilización de las cefalosporinas de tercera generación y no utilizarlas en infecciones banales, en profilaxis quirúrgica o en tratamientos empíricos (Follath, 1987). Evitar la combinación de dos betalactámicos con las condiciones expuestas anteriormente. Hacer un seguimiento rutinario de los pacientes

infectados con alguno de estos géneros para detectar la aparición de resistencias y evitar el fracaso terapéutico. Utilizar siempre dosis máximas del betalactámico (Sanders y Sanders, 1985).

Ya que la combinación de las cefalosporinas de tercera generación con los aminoglicósidos pueden disminuir pero no prevenir la aparición de resistencias, esta combinación no es recomendable (Follath y cols, 1987). Ante la existencia de resistencias, el imipenem y las quinolonas, serán la alternativa a elegir (Follath y cols., 1987).

Betalactamasas plasmídicas

Atendiendo al sustrato sobre el que actúan, las betalactamasas se pueden agrupar en tres clases (Medeiros, 1984): a) penicilinasas de amplio espectro con actividad frente a benzilpenicilinas y cefaloridina (p.ej. TEM-1 a TEM-7, SHV-1, y HSM-1); b) oxacilinasas que hidrolizan preferentemente oxacilina (p.ej. OXA-1 a OXA-3) y c) carbecilinasas que destruyen la carbenicilina (p.ej. PSE-1 a PSE-4).

A pesar de que las enzimas de los dos primeros grupos pueden encontrarse en cualquier enterobacteria (Matthew, 1979) estos mecanismos plasmídicos son los mayores contribuyentes a la resistencia de *E.coli* y *P.mirabilis*. Es conocido que la enzima más abundante en estas especies es la TEM-1 (Medeiros, 1979). Esta enzima hidroliza bien la ampicilina, en menor grado la cefazolina y muy poco la cefuroxima. Se inhibe por la presencia de ácido clavulánico.

Los niveles de resistencia a ampicilina de nuestras *E.coli*, son muy superiores a los encontrados en el Norte de Europa (Tabla 6). Sin embargo los porcentajes de amoxicilina-clavulánico son similares a los de Inglaterra y a los encontrados en España en estudios previos (Tabla 6). Los niveles de resistencia a la cefuroxima son casi la mitad de los encontrados en Inglaterra (Phillips, 1989).

Nuestros *P.mirabilis* presentan un nivel de resistencia a la ampicilina triple que el encontrado en el Norte de Europa y superior al encontrado en Canadá (tabla 6). Este nivel de resistencia también es doble

para la amoxicilina-clavulánico (Tablas 24 y 4), y nos sorprende el altísimo porcentaje encontrado por Dámaso en 1985 para la cefotaxima (48% Tabla 6) con respecto a la inexistencia de resistencia en nuestras cepas.

Observando los porcentajes de resistencia tanto de *E.coli* como de *P.mirabilis* (Tablas 22 y 24) no nos extrañaría nada si la mayoría de las cepas tuviera un enzima tipo TEM-1 o alguno del mismo grupo. Esto justificaría los altos porcentajes de resistencia a ampicilina (55 y 42% respectivamente) y los moderados a cefazolina (4.5 y 10%) y cefuroxima (4.5 y 8% respectivamente). Sin embargo sorprende el alto porcentaje de resistencias a amoxicilina-clavulánico de *E.coli* (30%) y moderado (15%) de *P.mirabilis*. Este porcentaje de resistencia en *E.coli* concuerda con el encontrado por Baquero y cols. en algunos hospitales de Madrid. Haciendo un estudio de estas cepas resistentes, encuentran que todas ellas contienen el plásmido TEM-1. Ahora bien ¿cómo explicar la alta resistencia a ácido clavulánico si la enzima codificada es inactivada por este ácido?. La respuesta se encuentra en que existe una hiperproducción de la enzima que se debe al parecer, a la presencia de multi-copias de la enzima TEM-1 (Martínez y cols., 1989).

Betalactamasas de espectro ampliado

Las betalactamasas de espectro ampliado están codificadas plasmídicamente pero a diferencia de las anteriores confieren resistencia a las cefalosporinas de tercera generación. Desde el aislamiento en Alemania en 1983 de un *Klebsiella pneumoniae* y una *Serratia marcescens* resistentes a cefotaxima mediante un plásmido (SHV-2)(Knothe y cols., 1983), el número de betalactamasas de espectro ampliado no ha dejado de crecer de la misma forma que el número de países que encuentran estas enzimas (véase revisión de Phillipon, 1989). Ante el alarmante número de cepas encontradas en la vecina Francia (Jarlier y cols., 1988; Legrand, 1989) era muy importante saber que ocurría en nuestro País. Nada mejor que un estudio multicéntrico como este para averiguarlo. El número total enterobacterias con una CMI mayor o igual a 0.5mg/l para cefotaxima y 1mg/l para ceftazidima fue de 32. Estudios posteriores con el método descrito por Legrand y cols en 1989 permitió averiguar que tan solo 3 cepas (1 *E.coli*, 1 *Serratia marcescens* 1 *Klebsiella pneumoniae*) podían presentar este mecanismo de resistencia (C. Rodríguez-Avil comunicación personal). Esto nos permite afirmar que las betalactamasas de espectro ampliado no son todavía un problema en nuestro País.

Papel de las betalactamasas plasmídicas en la clínica

Si bien las betalactamasas plasmídicas no confieren unos niveles tan altos de resistencia como las cromosómicas ni afectan a tantos antibióticos, su importancia clínica es también notable. El hecho de que los plásmidos se propaguen de unas cepas a otras con una facilidad mucho mayor que las cromosómicas dada su alta "promiscuidad" (Medeiros, 1984) hace que la existencia de epidemias intra o inter hospitalarias de resistencia sea preocupante (Phillipon, 1989). En nuestro País la importancia de las betalactamasas de espectro ampliado no son notorias en la actualidad. Sin embargo al igual que en países vecinos su importancia en el futuro no sorprenderá a nadie. La vigilancia y el uso racional de los antibióticos, sobre todo cefalosporinas de tercera generación esperamos que retrase la aparición de estas enzimas.

RESISTENCIA A AMINOGLUCOSIDOS

El uso clínico de la estreptomina y de la kanamicina está muy limitado por la resistencia debida a la gran difusión mundial de numerosos enzimas codificados plasmídicamente. En los Estados Unidos y en el norte de Europa, la gentamicina reemplazó a la kanamicina a principios de los 70 en el tratamiento de las infecciones por gram negativos. A pesar de que aparecieron resistencias, el porcentaje no ha alcanzado las cotas de los primeros (Moellering, 1983). La aparición de resistencias varia mucho de unos lugares a otros. Así por ejemplo, en el hospital general de Massachusetts la resistencia a la gentamicina aumentó rápidamente hasta alcanzar una meseta alrededor de la cota del 10% de resistencias a pesar de haber ido incrementando su uso (Moellering, 1977). Por otro lado en algunas epidemias este porcentaje ha alcanzado la cifra del 50% (Witchitz, 1981). Cuando se descubrió el gen que codifica la enzima ANT (2") en *Enterobacter cloacae*, más de un tercio de los aislados de esta especie fueron resistentes a la gentamicina y tobramicina entre 1980 y 81 en el Hospital Brigham and Womens (Mayer, 1986). Generalmente suele haber una resistencia cruzada entre gentamicina y tobramicina por la proliferación del enzima ANT (2") (Phillips, 1984). En nuestras enterobacterias el porcentaje de resistencia a la gentamicina es moderado con un 5% y a la tobramicina del 3.5% (Tabla 15). La resistencia conjunta es del 2.5%.

El 39% de nuestras cepas resistentes a la gentamicina poseían un mecanismo plasmídico destacando la presencia de las enzimas AAC(3)-I y AAC(3)-V (Prof. Gómez-Lus, comunicación personal).

La presencia de las enzimas citadas en nuestras enterobacterias justifica los patrones de resistencia ya que AAC(3)-I puede acetilar gentamicina y en menor medida tobramicina, y AAC(3)-V acetila a ambos antibióticos.

La mayoría de datos mundiales de la prevalencia de las enzimas que inactivan los aminoglucósidos, provienen fundamentalmente de dos fuentes. En una Shimizu y sus colaboradores estudian los mecanismos de resistencia en la zona de Asia Oriental, Chile y EEUU, y en la otra el grupo europeo de estudio de la resistencia analizan los mecanismos de Europa. Mientras que en EEUU existen varias enzimas, ANT(2"),

ACC(3) AAC(6') y AAC(2'), en Asia predomina la AAC(6') y en Chile la AAC(3)-V. En Europa al igual que en EEUU los enzimas predominantes son el ANT(2"), ANT(2") + AAC(6')-I y el ACC(3)-I. En el sur de Europa, existe una alta incidencia del AAC(3)-V al igual que en Chile (Grupo Europeo y Shimizu, 1985).

Nuestra prevalencia de la AAC(3)-I y la AAC(3)-V están pues, en concordancia con las revisiones anteriores.

Los bacilos no fermentadores no poseen un mecanismo plasmídico de resistencia (Prof. Gómez Lus, comunicación personal), pero en general son intrínsecamente más resistentes que las Enterobacterias (Tabla 44). Efectivamente los BNF son en un 42.7% resistente a gentamicina, en un 21.8% a tobramicina y en un 19.79 a ambos. La *P. aeruginosa* ha alcanzado una resistencia del 37, 15, y 8% a gentamicina, tobramicina y ambos respectivamente mientras que el *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitratus* ha llegado a la sorprendente cifra del 75% de resistencia a gentamicina, del 50% a tobramicina y del 50% a ambos.

Los niveles de resistencia de *P. aeruginosa* están en concordancia con los datos de EEUU (Cross, 1983; Young, 1986) y otros países europeos (Landuyt, 1986). Sin embargo nuestros niveles de resistencia de "*Acinetobacter anitratus*" no son equiparables a los de las fuentes citadas.

En general, los mecanismos de resistencia de la *P. aeruginosa* son distintos al de las enterobacterias (Olson, 1985). Los mecanismos no hay que buscarlos en enzimas codificadas plasméricamente ya que suelen ser alteraciones en la pared celular que disminuye su permeabilidad. Estos mecanismos de resistencia que aparecen como consecuencia de mutaciones cromosómicas (Weinstein, 1980) dificultan mucho el control de las resistencias y epidemias en estos bacilos (Alford, 1987). El hecho de que existan una población muy heterosusceptible en número insuficiente para detectarlas en los controles habituales en la admisión de las UCIs, hace que ante la presión selectiva de los antibióticos aparezcan las cepas resistentes antes de que se haya podido tomar alguna medida de aislamiento del paciente con lo que se evitaría la diseminación de la cepa resistente (Alford, 1987). Parece que el hecho de que aparezcan *P. aeruginosa* resistentes en heridas y esputo se debe a que no se alcanzan en estos lugares niveles inhibitorios de aminoglicósidos (Alford,

1987). Otros autores correlacionan la aparición de resistencias con el empleo de dosis inadecuadas de estos antibióticos (Gaman, 1976).

La prevalencia de la resistencia a un determinado aminoglucósido es un proceso dinámico. En 1969 en un hospital de Francia se aisló la primera enterobacteria resistente mediante el plásmido ANT(2") pero enseguida el patrón de resistencia cambió con la aparición del plásmido AAC(3) (Witchitz, 1981). Como ambos genes confieren resistencia a la gentamicina que era el antibiótico más utilizado en esa época es difícil sugerir que la presión inducida por la gentamicina era el motivo de dicho cambio.

El patrón fenotípico de resistencia no es una buena herramienta para la epidemiología de la prevalencia de resistencias a los aminoglucósidos, ya que existen epidemias con los mismos patrones de resistencia en el mismo microorganismo pero con diferentes plásmidos (John, 1983). Sin embargo, por la complejidad de las técnicas para aislar los plásmidos, es el patrón fenotípico el que ayuda a "intuir" el plásmido (Shimizu, 1985).

La diseminación de la resistencia a los aminoglucósidos se debe a varios factores entre los que destacan el huésped, las bacterias, movilidad de elementos genéticos, ambiente hospitalario, etc (Mayer, 1986). Aun así, la mayoría de las epidemias se producen en unidades de cuidado intensivo de grandes hospitales y en las unidades de quemados (John, 1987). Los géneros comúnmente involucrados en estas epidemias son *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Serratia* y *Pseudomonas*.

No existe un consenso general acerca de la estabilización en el porcentaje de resistencias a los aminoglucósidos (Mayer, 1986; McGowan, 1983). Parece ser que la disminución en su utilización o por los menos, el no haber aumentado su consumo, está en relación directamente proporcional a su resistencia (Mayer, 1986). No obstante existen casos en los que en un hospital se incrementa la resistencia a un aminoglucósido (tobramicina), sin apenas utilizarlo (Cross, 1983). Esto se puede explicar por la presencia de plásmidos que confieren resistencia a varios aminoglucósidos por lo que la presión selectiva de unos

interfiere en los otros. Es más preocupante el hecho de que existan plásmidos de resistencia en las bacterias de los animales y que puedan pasar a los humanos a través de su consumo (Gómez Lus, 1989).

El hecho de que el porcentaje de resistencias se haya estabilizado en algunos países y que en nuestro estudio tengamos unas cifras moderadas (5%) de resistencia a los aminoglicósidos en las enterobacterias, no quiere esto decir que no se siga poniendo mucho cuidado en el consumo de estos antimicrobianos y sobre todo que se limite lo máximo posible su administración a los animales.

RESISTENCIA AL COTRIMOXAZOL

Es difícil explicar la gran diferencia existente entre los niveles de resistencia al cotrimoxazol de los países desarrollados y los países en vías de desarrollo (Tabla 6). Una buena explicación se podría encontrar en la libre disposición que existe en los países en desarrollo y por tanto en la facilidad del abuso en el consumo. Además, la carencia de un buen alcantarillado y tratamiento de aguas fecales favorece, junto a la gran incidencia de enfermedades digestivas, a que cualquier elemento de la población pueda estar en contacto con cepas tratadas (Urbino, 1989). Así por ejemplo, en Chile, el pobre alcantarillado y la presencia de canales de desagüe al aire libre, facilita el contacto con estas cepas. En nuestro País con un porcentaje de resistencia al cotrimoxazol del 25% en las enterobacterias nos situamos en una cifra intermedia entre ambas zonas de desarrollo. El hecho de que existe un buen tratamiento de las aguas fecales y del alcantarillado pero que sin embargo existe una libre disposición de esta combinación así como la gran cantidad de compuestos que lo contienen, podría justificar su abuso y por tanto esta cifra intermedia de resistencia. Cuando el uso del cotrimoxazol es muy elevado, como en un hospital geriátrico de Finlandia, las cifras que nos encontramos vuelven a ser muy elevadas llegando a alcanzar la cifra del 35% de *E.coli* resistentes en 1984 (Houvinen, 1986).

Para tratar de evitar este aumento en las resistencias a la combinación trimetoprim-sulfametoxazol, en Finlandia, en 1973 se comenzó a utilizar el trimetoprim solo (Heikkila, 1990). En la década de los ochenta se utilizó también esta pauta en los países en desarrollo (Urbina y cols, 1989). A pesar de esta

utilización aislada del trimetoprim para evitar el aumento de resistencias a las sulfamidas, el número de resistencias a las sulfamidas siguió aumentando hasta alcanzar la cifra del 40% (Houvinen y cols , 1986).

En 1990 Heikkila concluye en su interesante trabajo lo siguiente (Heikkila, 1990):

"El aumento de resistencia a trimetoprim de *E.coli* ha ido creciendo constantemente en los pacientes ambulatorios."

"La proporción de alta resistencia al trimetoprim también ha ido aumentando lo que sugiere la presencia de mecanismos de resistencia transferibles."

"La enzima DHFR tipo I es la más frecuente aunque existen otros tipos de DHFR y mecanismos de resistencia desconocidos."

"A pesar de la utilización aislada del trimetoprim, la proporción de *E.coli* resistentes a trimetoprim pero sensibles a sulfamidas no se ha incrementado."

Parece pues, que el incremento de resistencias está en relación directamente proporcional al empleo de trimetoprim solo o en combinación. Observa Heikkila también, que a pesar de que desde 1981 la utilización de trimetoprim no ha variado considerablemente en la zona estudiada, la resistencia al trimetoprim si ha aumentado. Sin embargo si se ha comprobado que el aumento de resistencia a ampicilina ha aumentado notablemente del 11 al 18%. Amyes (Amyes, 1989), sugiere que existen plásmidos R con genes de resistencia al trimetoprim y a la ampicilina y que al estar ligados entre si se confiere la resistencia a ambos. Así pues un aumento de la utilización y resistencia a la ampicilina seleccionaría un aumento de resistencia al trimetoprim sin que se incrementase su consumo (Heikkila, 1990). No nos es posible con este estudio comprobar la existencia de plásmidos que confieran resistencia cruzada con la ampicilina (Amyes, 1989) y por tanto estudiar la influencia del consumo de la ampicilina sobre el trimetoprim. Aún así, la resistencia cruzada es del 21.1%. A través de los datos de este estudio, si podemos deducir el porcentaje

de cepas que siendo resistentes al trimetoprim son también resistentes al sulfametoxazol. Este porcentaje es muy elevado (90.2%) pero concuerda con el 90% encontrado en Finlandia (Hekkila) o el 93.4 de Nigeria (Lamikanra). Una vez más los altos niveles de resistencia son equiparables a los países en desarrollo (Urbina, 1989) pero sorprende el bajo porcentaje en *K.pneumoniae* 3.3% frente al 40.6% de Chile (Urbina, 1989).

El descubrimiento de enzimas que conferían resistencia solo al trimetoprim o al trimetoprim y otros antibióticos, justificaba la hipótesis de que un antibiótico podía seleccionar el aumento de resistencias a otro.

Efectivamente la resistencia a esta combinación, esta mediada sobre todo por la presencia de varias enzimas denominadas dihidrofolato reductasas de las que se han descrito siete tipos. Estas enzimas se pueden encontrar codificadas en un plásmido o en un trasposón.

Al igual que los porcentajes de resistencia varían mucho de unos países a otros, la distribución de estas enzimas también es muy variable. Mientras que las cepas resistentes de Chile pueden presentar la DHFR tipo I , DHFR II incluso los dos (Murray , 1986), en Africa del Sur solo encuentran el tipo I. En nuestro País y con las cepas estudiadas en este mapa multicéntrico, predomina la tipo I (72.8%), solo el 1.1 % tenía la DHFR II y en el 26.1 no se pudo detectar ninguna enzima (Dr. Otero comunicación personal).

El abuso de la combinación trimetoprim-sulfametoxazol en nuestro medio hace que se seleccionen estas cepas resistentes y por lo tanto se limite su utilidad terapéutica. La asociación de mecanismos de resistencia con otros antimicrobianos (Amyes, 1989), no implica que no se limite su libre utilización, de lo contrario llegaremos a los niveles de resistencia alcanzados en los países en desarrollo limitando su utilidad y teniendo que hacer uso de otros antimicrobianos más tóxicos o caros.

E.coli

Mientras que la resistencia al cotrimoxazol no supone un gran problema en los países desarrollados con unos porcentajes de resistencia en 1983 entre el 4 y 10% en Estados Unidos, Inglaterra o Finlandia, (Murray y cols, 1985) la realidad en los países en desarrollo es bien distinta. En Chile el porcentaje de resistencia de *E.coli* era del 44% en 1983 y del 40% en Tailandia en 1984. En Honduras era del 38% en 1983 y en Costa Rica ascendió del 25% al 48% en un año (Murray y cols, 1985). En este mismo período la resistencia en el Norte de Europa era del 10% y en 1988 la resistencia había bajado algo en Chile (37%) y se mostraba altísima en un hospital de Nigeria (85% en 1988).

En este estudio multicéntrico la resistencia de *E.coli* se sitúa en el 29.44%. Es una cifra desgraciadamente para nosotros, que se acerca más a los países en desarrollo que a los países del resto de Europa o América.

El aumento de resistencia al trimetoprim aislado también ha aumentado notablemente. En Finlandia en tres zonas hospitalarias la resistencia del *E.coli* ascendió del 5 al 21% en el período de 1984-1987 (Hekkila, 1990). La proporción de *E.coli* con altos niveles de resistencia (CMI > 1024mg/l) también aumentó del 84 al 100% en el mismo período. La resistencia conjunta a sulfamidas es del 90%. En esta zona la hibridación con la sonda DHFR I se estableció en una proporción del 50-74%, con la DHFR II en un 5% o menor con la tipo V en un 0-1% y no hubo hibridación con el resto.

RESISTENCIA A QUINOLONAS

La frecuencia de aparición de resistencia en las enterobacterias al ácido nalidíxico es de 1/10.000.000 y para la ciprofloxacino es 1000 veces menor (Wolfson, 1989). Sin embargo la frecuencia para ciprofloxacino en *Pseudomonas aeruginosa* es 1000 veces mayor que para *E.coli* (Wolfson, 1989). Además de *Pseudomonas aeruginosa*, se ha descrito una mayor "propensión " a mutar y por tanto a

aumentar la resistencia en *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp y *Serratia marcescens* (Piddock y Wise, (1989).

En nuestro trabajo tenemos 57 (9%) enterobacterias resistentes al ácido nalidíxico y 11 (2%) resistentes a ciprofloxacino. El porcentaje de resistencias a nalidíxico es ligeramente superior al encontrado en otros países (Tabla 6) y para ciprofloxacino los porcentajes son similares.

Contrariamente a lo esperado, de las 11 enterobacterias resistentes a ciprofloxacino no hemos encontrado ninguna *Serratia marcescens* y solo 1 *Klebsiella pneumoniae*. Sorprende la elevada proporción de *E.coli* (6/11) y la aparición de una *Morganella morganii*. Además tenemos dos *Enterobacter aerogenes* y un *Enterobacter agglomerans* resistentes.

En los bacilos no fermentadores la proporción es mayor a la encontrada en Centro Europa (Tabla 6). En esta región la frecuencia de resistencia a ciprofloxacino es de un 1% en 1988 y nosotros tenemos un 7%. Tenemos además, dos *Acinetobacter calcoaceticus var anitratus* resistentes.

Como ya se comentó todas las enterobacterias resistentes a ciprofloxacino provienen o del hospital de paraplégicos de Toledo o de la Comunidad de Madrid. En los bacilos no fermentadores existe una mayor variabilidad en cuanto a la procedencia.

Afortunadamente el número de cepas resistentes es muy bajo para ciprofloxacino y la no existencia de plásmidos (Courvalin, 1990) hace que la diseminación de resistencias sea poco probable. No obstante en los centros en los que por la patología tratada (p. ej. Toledo) se hace necesario el uso de estos antibióticos, las resistencias aparecen. Así pues, aunque en el momento actual los porcentajes de resistencia son bajos, hay que controlar mucho la utilización de estos fármacos para que su utilidad terapéutica no disminuya en el futuro.

CEPAS MULTIRRESISTENTES

Con nuestros criterios de inclusión de multirresistencia (ver material y métodos) hemos obtenido 80 cepas resistentes. No consideraremos en esta discusión las 110 enterobacterias resistentes a betalactámicos y cotrimoxazol por su carácter "habitual" (ver introducción).

Hemos encontrado solo una enterobacteria resistente a los cuatro grupos de antimicrobianos (Tabla 49). Es un *Enterobacter aerogenes* del Centro Nacional de Paraplégicos de Toledo. Como ya se ha comentado, la patología tan especial de este centro obliga a un tratamiento muy agresivo de los pacientes (infecciones urinarias en sondados permanentes, etc). Este tratamiento polimicrobiano hace que se seleccionen cepas multirresistentes. Además de esta cepa, en el mismo centro se han aislado 2 *Enterobacter aerogenes* resistentes a betalactámicos, aminoglicósidos y quinolonas y un *E.coli* resistente a betalactámicos, cotrimoxazol y quinolonas. Como se ha citado anteriormente, los miembros del género *Enterobacter* poseen una betalactamasa cromosómica inducible y una gran capacidad de mutar en los genes que codifican las proteínas de la pared (Dang y cols., 1988) lo que les hace "fácilmente multirresistentes".

Existen 35 cepas resistentes a tres grupos:

21 son resistentes a betalactámicos, aminoglicósidos y cotrimoxazol. Obviamente son todas enterobacterias ya que no hemos considerado los BNF resistentes al cotrimoxazol. De estas enterobacterias 7 son *E.coli* (5% de *E.coli*). Este porcentaje está muy por debajo del encontrado por Kenneth y cols., en 1985 en USA (20%). El mecanismo de resistencia puede estar mediado por un plásmido (Medeiros, 1982; Amyes y cols., 1989). Sorprende en este grupo el elevado número de *P.mirabilis* (5 de 90) y el escaso número de *Serratia* spp. (2 de 14).

11 cepas son resistentes a betalactámicos, aminoglicósidos y quinolonas. De estas cepas 9 son BNF y 2 *Enterobacter aerogenes* (de Toledo). De los 9 BNF, 6 son *P.aeruginosa*. En esta última especie esta

descrito este tipo de multirresistencia por alteraciones en los lipopolisacáridos de la pared (Legakis y cols., 1989).

Hay 44 cepas resistentes a dos grupos. El porcentaje de bacilos no fermentadores resistentes a betalactámicos y aminoglicósidos es del 22% muy parecido al encontrado por Chow y cols., en 1989 en Canadá (21%). Con este mismo patrón de resistencias sorprende el alto número de *P.mirabilis* (5) y el bajo de *Enterobacter* spp (2) y *Serratia marcescens* (1). El mecanismo de resistencia a estos dos grupos se debe a alteraciones de la pared en *Enterobacter* spp (Sanders y cols. 1984) y a alteraciones en la pared más una AAC 6' cromosómica [inducible] en *Serratia marcescens* (Sanders y Watanakakunakorn, 1986).

CONCLUSIONES

1. Las enterobacterias representan el 85% de los bacilos gram negativos identificados.
2. *E.coli* es el microorganismo más frecuentemente encontrado (51%), seguido de *Proteus mirabilis* (11%) y *Pseudomonas aeruginosa* (11%).
3. La distribución por servicios y muestras guarda aproximadamente la misma proporción.
4. A excepción de Castilla la Mancha no existen grandes diferencias en cuanto a las resistencias en las diferentes Comunidades Autónomas.
5. En Castilla la Mancha existe una mayor resistencia significativa ($p < 0.05$) en 5 de los 14 antibióticos utilizados. El Hospital de Parapléjicos de Toledo es el que contribuye a la desviación significativa de esta comunidad.
6. Los antimicrobianos que menor número de resistencias presentan son ceftazidima, imipenem, y ciprofloxacino.
7. Nuestras enterobacterias son más sensibles a ceftazidima y cefuroxima que en Centro Europa y USA respectivamente. La resistencia a gentamicina y ciprofloxacino es mayor que en Centro Europa.

8. *E.coli* es más resistente a ampicilina que en el Norte de Europa y más sensible a cefuroxima que en Inglaterra.
9. Con relación a las resistencias observadas en el Norte de Europa, nuestras cepas de *Proteus mirabilis* presentan una resistencia tres veces superior en ampicilina y una resistencia superior a amoxicilina-clavulánico.
10. Existe una mayor resistencia de *Enterobacter aerogenes* a cefotaxima en nuestra muestra comparado con otros países.
11. La resistencia de *Citrobacter freundii* es menor a cefuroxima que en el resto de países estudiados.
12. La resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* es menor a aztreonam y mayor a ceftazidima que en el resto de Europa.
13. *Acinetobacter* spp son mas resistentes a ticarcilina y más sensibles a cefotaxima.
14. Sólo se han encontrado 3 cepas con betalactamasas de espectro ampliado (*Escherichia coli*, *Serratia marcescens* y *Klebsiella pneumoniae*).

-
15. Existe una baja resistencia de las enterobacterias a los aminoglicósidos (5% a gentamicina y 3.5% a tobramicina). Sin embargo, la resistencia de *Acinetobacter* spp es altísima (75 y 50% respectivamente).
 16. Entre las enterobacterias el patrón de resistencia plasmídico a los aminoglicósidos es fundamentalmente del tipo AAC (3)-I y AAC(3)-V.
 17. Existe un alto porcentaje de resistencias al cotrimoxazol. El porcentaje es parecido al de los países en desarrollo.
 18. El porcentaje de resistencias al ciprofloxacino es muy bajo. Aun así, nuestros BNF son más resistentes que los de Centro Europa.
 19. Las enterobacterias resistentes a ciprofloxacino solo aparecen en Toledo y Madrid.
 20. En las cepas multirresistentes sorprende el alto número de *Proteus mirabilis* aislados y el bajo número de *Serratia marcescens*.

BIBLIOGRAFIA

Acar JF, Bouanchaud DH, Chabert YA: Evolutionary aspects of plasmid-mediated resistance in a hospital environment. In: Topics in Infectious Diseases. Vienna: Springer-Verlag, 1977; 5-23.

Acar J.F, Goldstein F.W: Genetic aspects and epidemiologic implications of resistance to trimethoprim. Rev. Infect. Dis. 1982; 4(2): 270-275.

Achtman M, Pluschke G: Clonal analysis of descent and virulence among select *E. coli*. Ann Rev Microbiol. 1986; 40: 185-210.

Adam A: Biology of colon bacillus dyspepsia and its relation to pathogenesis and to intoxication. Jahrb Kinderberth. 1923; 101:295. En Mandell G, Gordon R Bennett, J: Infect Diseases. pp 1671. 3a ed. New York, 1990.

Al-Khoja MS, Darrel JH: The skin as the source of *Acinetobacter* and *Moraxella* species occurring in blood cultures. J Clin Pathol. 1979; 32: 497-9.

Aleixandre V. Urios A. Herrera G. Blanco M. New *Escherichia coli* gyrA and gyrB mutations which have a graded effect on DNA supercoiling Mol Gen Genet. 1989; 219(1-2):306-12.

Alford R.H, Hall A: Epidemiology of infections caused by gentamicin-resistant enterobacteriaceae and pseudomonas aeruginosa over 15 years at the Nashville veterans administration medical center. Rev. Infect. Dis. 1987; 9(6): 1079-1086.

Allen J.R, Hightower A.W, Martin S.M, Dixon R.E: Secular trends in nosocomial infections: 1970-1979. Am. J. Med. 1981; 70: 389-392.

Amyes S.G.B: Epidemiology of trimethoprim resistance. J. Antimicrob. Chemother. 1986; 18 (Suppl. C), 215-221.

Amyes S.G.B, Towner K.J, Carter G.I, Thomson C.J, Young H.K: The type VII Dihydrofolate reductase: a novel plasmid-encoded trimethoprim-resistant enzyme from gram-negative bacteria isolated in Britain. J. Antimicrob. Chemother. 1989;24: 11-119.

Amyes, SGB: The success of plasmid-encoded resistance genes in clinical bacteria. J Med Microbiol. 1989; 28:73-83.

Andersen BM. Srlie D. Hotvedt R. Almdahl SM. Olafsen K. George R. Gilfillian A: Multiple beta-lactam resistant *Enterobacter cloacae* infections linked to the environmental flora in a unit for cardiothoracic and vascular surgery. Scand J Infect Dis. 1989; 21(2):181-91.

Anónimo: Antibiotics policies, practices and pressures. JAC. 1979;5: 1-5.

Arakawa Y. Ohta M. Kido N. Mori M. Ito H. Komatsu T. Fujii Y. Kato N: Chromosomal beta-lactamase of *Klebsiella oxytoca*, a new class A enzyme that hydrolyzes broad-spectrum beta-lactam antibiotics [published erratum appears in Antimicrob Agents Chemother 1989; 33(5):790] . Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33(1). 63-70.

Aspiotis A, Cullmann W, Dick W, Stieglitz M: Inducible B-lactamases are principally responsible for the naturally occurring resistance towards B-lactam antibiotics in *proteus vulgaris*. Chemotherapy. 1986;32: 236-246.

Atkinson B.A, Lorian V: Antimicrobial agent susceptibility patterns of bacteria in hospitals from 1971 to 1982. J. Clin. Microbiol. 1984; 24(4): 791-796.

Baquero F: Resistencia a las quinolonas. Rev. Esp. Quimioterap. 1988; 1(1): 21-30.

Barg N, Moyer R: Persistence of an aminoglycoside-resistance determinant at a university hospital for 12 years. J. Infect. Dis. 1987; 115(3):586-588.

Bauernfeind A. Chong Y. Schweighart S. Extended broad spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* including resistance to cephamycins. Infection. 1989; 17(5):316-21.

Ben Redjeb S. Ben Yaghlane H. Boujnah A. Philippon A. Labia R: Synergy between clavulanic acid and newer beta-lactams on nine clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* resistant to third-generation cephalosporins. J Antimicrob Chemother. 1988; 21(2):263-6.

Benn R.A.V, Kemp R.J: Effect of antibiotic use on the incidence of cephalosporin resistance in two Australian hospitals. J. Antimicrob. Chemother 1984; 14 (Suppl. B): 71-76.

Bergogne-Berezin E, Joly-Guillou M.L: And underestimated nosocomial pathogen, acinetobacter calcoaceticus. JAC. 1985; 16:535-538.

Betts RF, Valenti WM, Chapman SW, et al :Five-year surveillance of amonoglycoside usage in a university hospital. Ann Intern Med 1984; 100: 219-222.

Bodey Gp. Rodriguez V, Smith JP: *Serratia* spp infections in cancer patients. *Cancer* 1970; 25:199.

Bollmann R. Halle E. Sokolowska-Kohler W. Grauel EL. Buchholz P. Klare I. Tschape H. Witte W: Nosocomial infections due to *Serratia marcescens*--clinical findings, antibiotic susceptibility patterns and fine typing. *Infection*. 1989; 17(5):294-300.

Bouma JE. Lenski RE: Evolution of a bacteria/plasmid association. *Nature*. 1988; 22. 335(6188):35-1-2.

Bouza E. Diaz-Lopez MD. Bernaldo de Quiros JC. Rodriguez-Creixems M: Ciprofloxacin in patients with bacteremic infections. The Spanish Group for the Study of Ciprofloxacin. *Am J Med*. 1989; 30. 87(5A):228S-231S.

Bouza E, Cosín J y Grupo Cooperativo para el Estudio de la Infección. Estudio de prevalencia de infección hospitalaria y consumo de antimicrobianos. *Med. Clin. (Barc)* 87; 3:353-358.

Bratoeva M.P, John Jr. J.F: Dissemination of trimethoprim-resistant clones of shigella sonnei in Bulgaria. *The Journal of Infectious Diseases*. 1989; 159(4): 648-653.

Britt M.R, Burke J.P, Nordquist A.G, Wilfert J.N, Smith C.B: Infection control in small hospitals. Prevalence surveys in 18 institutions. *JAMA*. 1976; 236(5): 1700-1703.

Bryan L.E: General mechanisms of resistance to antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 1988; 22 (Suppl. A) 1-15.

Buckley Rm, McGuckin M, MacGregor Rr: Urine counts following sexual intercourse. N Eng J Med. 1978; 298:321.

Buchbinder M, Webb JC, anderson LV y cols: Laboratory studies and clinical pharmacology of nalidixic acid (WIN 18,320). Antimicrob Agents Chemother. 1962; 308.

Bush K: Recent developments in B-lactamase research and their implications for the future. Rev. Infect. Dis. 1988; 10(4), 681-690.

Bush K: Characterization of B-lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 1989; 33(3): 259-263, 1989.

Bush K., Tanaky SH., Bonner DP., Sykes RB: Resistance caused by decreased penetration of A-lactam antibiotics into *Enterobacter cloacae*. Antimicrob Agents Chemother 1985; 25:555-560.

Campoli-Richards D.M, Monk J.P, Price A, Benfield P, Todd P.A, Ward A: Ciprofloxacin. A review of its antibacterial activity pharmacokinetic, properties and therapeutic use. Drugs 1988; 35: 373-447.

Carlson J.R, Thornton S.A, Dupont H.L, West A.H, Mathewson J.J: Comparative in vitro activities of ten antimicrobial agents against bacterial enteropathogens. Antimicrob. Agents Chemother. 1983; 24(4): 509-513.

Casellas JM. Goldberg M.:Incidence of strains producing extended spectrum beta-lactamases in Argentina. Infection. 1989; 17(6):434-6.

Centers for Disease Control. National nosocomial infection study report. Annual summary of 1979. 1982 MMWR.

Cohen S, Hooper DC, Wolfson JS y cols: Endogenous active efflux of norfloxacin in susceptible *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988; 32:1187-90.

Cooksey R, Swenson J, Clark N, Gay E, Thornsberry C: Patterns and mechanisms of B-lactam resistance among isolates of *Escherichia coli* from hospitals in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1990; 34(5): 739-745.

Courcol RJ. Pinkas M. Martin GR. A seven year survey of antibiotic susceptibility and its relationship with usage. *J Antimicrob Chemother*. 1989; 23(3):441-51.

Courvalin P: Plasmid-mediated 4-quinolone resistance: a real or apparent absence?. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1990; 34(5): 681-684.

Cross A.S, Opal S, Kopecko D.J: Walter Reed hospital, 1976 to 1980: Specific analysis of gentamicin, tobramycin and amikacin resistance. *Arch. Intern. Med*. 1983; 143: 2075-2080.

Cross A, Allen J.R, Burke J, Duce G, Harris A, John J, Johnson D, Lew M, MacMillan, Meers P, Skalova R, Wenzel R, Tenney J: Nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa*: Review of recent trends. *Rev. Infect. Dis*. 1983; 5 (Suppl. 5): 837-845.

Cross A.S: Evolving epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infectious. *Eur. J. Clin. Microbiol*. 1985; 4(2):156-159.

Cullmann W. Dick W. Stieglitz M. Opferkuch W: Comparable evaluation of orally active beta-lactam compounds in ampicillin-resistant gram-positive and gram-negative rods: role of beta-lactamases on resistance Chemotherapy. 1988; 34(3):202-15.

Cullmann W. Dick W: Induction potency of various beta-lactam derivatives in gram-negative rods. Chemotherapy. 1989; 35(1):43-53.

Cullmann W, Büscher K.H, Dick W: Selection and properties aeruginosa variants resistant to beta-lactam antibiotics. Eur. J. Clin. Microbiol. 1987; 6(4):467-473.

Cullmann W: Mode of action and development of resistance to quinolones. Antibiot Chemother. 1989; 42:287-300.

Curtis N.A.C, Eisenstadt R.L, Rudd C, White J: Inducible type I B-lactamases of gram-negative bacteria and resistance to B-lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 1986; 17, 51-61.

Chamberland S. Bayer AS. Schollaardt T. Wong SA. Bryan LE: Characterization of mechanisms of quinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in vitro and in vivo during experimental endocarditis Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33(5):624-34.

Chanal CM. Sirot DL. Petit A. Labia R. Morand A. Sirot JL. Cluzel RA: Multiplicity of TEM-derived beta-lactamases from *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at the same hospital and relationships between the responsible plasmids. Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33(11):1915-20.

Cherubin C,E: Antibiotic resistance of salmonella in Europe and the United States. Rev. Infect. Dis. 1981; 3(6): 1105-1126.

Chow AW. Wong J. Bartlett KH. Shafran SD. Stiver HG. Cross-resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to ciprofloxacin, extended-spectrum beta-lactams, and aminoglycosides and susceptibility to antibiotic combinations. Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33(8):1368-72.

Christiansen GD, Koranes Sb, Reed L y cols. Epidemic *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: Importance of the gastrointestinal tract as a reservoir. Infect Control. 1982; 3: 127-133.

Damaso D. Sanchez-Moreno MP. Martinez-Martinez L. Mesa E. Portero F. Mendaza P. Daza RM: Activity of cefotaxime and amikacin against 14,272 gram-negative bacteria rods clinical samples in the period 1980 to 1985 . Drugs. 1988; 35 Suppl 2: 1-5.

Dang P, Gutmann L, Quentin C, Willianson R, Collatz E: Some properties of *serratia marcescens*, *salmonella paratyphi a*, and *enterobacter cloacae* with non-enzyme-dependent multiple resistance to B-lactam antibiotics, aminoglycosides and quinolones. Rev. Infect. Dis. 1988; 10(4): 899-904.

Dang P, Gutmann L, Quentin C, Williamson R, Collatz E: Some properties of *serratia marcescens*, *salmonella parathypi A*, and *enterobacter cloacae* with non-enzyme--dependent multiple resistance to B-lactam antibiotics, aminoglycosides and quinolones. Rev. Infect. Dis. 1988, 10(4):898-904.

Datta N, Knotomichalau P: Penicilliasse synthesis controlled by infectius R factors in *Enterobacteriaceae*. Nature 1965; 208: 239-241.

Datta N. Plasmids as organisms. En Helsinki DR, Cohen SN, Clevwell DB y cols., eds. Plasmids in Bacteria. New York. Plenum Press; 1985: 393-95.

Datta N: R factors in *Escherichia coli* . Ann NY Acad Sci. 1971; 182: 59-64

De la Torre MG, Romero-Vivas J, Martinez-Beltran J: *Klebsiella* bacteriemia: An analysis of 100 episodes. Rev Infect Dis. 1985; 7:143-150.

Desplaces N, Gutmann L, Carlet J, Guibert J, Acar J.F: The new quinolones and their combinations with other agents for therapy of severe infections. J. Antimicrob. Chemother. 1986; 17 (Suppl. A): 25-29.

Devaud H, Katser, FH, Bachi B: Transposon-mediated multiple antibiotic resistance in *Acinetobacter* strains. Antimicrob Agents Chemother. 1982; 22: 323-9.

Dworzack D.L, Pugsley M.P, Sanders C.C, Horowitz E.A: Emergence of resistance in gram-negative bacteria during therapy with expanded-spectrum cephalosporins. Eur. J. Clin. Microbiol. 1987, 6(4): 456-459.

Eliopoulos G.M: Induction of B-lactamases. J. Antimicrob. Chemother. 1988; 22 (Suppl. A): 37-44, 1988.

Elwell LP, Roberts M, Mayer LW y cols.: Plasmid mediated beta-lactamase production in *Neisseria gonorrhoeae*. Antimicrob Agents Chemother. 1985; 28:302-7

Ericsson CD, Dupont, HL: Traveler's diarrhea and toxigenic *E.coli*: recent developments. En Remington JS., Swartz MN. eds. Current Topics in Infectious Diseases. 6a ed. New York: McGraw-Hill; 1985; 66-84.

European Study Group of Antibiotic Resistant: Incidence of inducible beta-lactamases in gram-negative septicemia isolates from twenty-nine european laboratories. Eur. J. Clin. Microbiol. 1987; 6(4): 460-466.

European Study Group on Antibiotic Resistance. In vitro susceptibility to aminoglycoside antibiotics in blood and urine isolates consecutively collected in twenty-nine european laboratories. Eur. J. Clin. Microbiol. 1987; 6(4): 378-385.

European Study Group on Antibiotic Resistance: Incidence of inducible beta-lactamases in Gram-negative septicemia isolates from twenty-nine european laboratories. Eur. J. Clin. Microbiol. 1987; 6(4), 460-466.

Farrar W.E: Antibiotic resistance in developing countries. J. Infect. Dis. 1985; 152(6): 1103-1106.

Farrar, WE: Molecular analysis of plasmids in epidemiologic investigation. J Infect Dis. 1983; 148: 1-6.

Filand M: Emergence of antibiotic resistance in hospitals, 1935-1975. Review of Infectious Diseases. 1979; 1(1): 4-21.

Finland, M: Changing patterns of susceptibility of common bacterial pathogens to antimicrobial agents. *Ann Intern. Med.* 1972; 76:1009-1036

Fisher LM. Lawrence JM. Josty IC. Hopewell R. Margerrison EE. Cullen ME: Ciprofloxacin and the fluoroquinolones. New concepts on the mechanism of action and resistance. *Am J Med.* 1989 Nov 30. 87(5A):2S-8S.

Follath F, Costa E, Thommen A, Frei R, Burdeska A, Meyer J: Clinical consequences of development of resistance to third generation cephalosporins. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 1987; 6(4): 446-450.

French G. Ling T: Amoxycillin/clavulanate resistant *Escherichia coli* [letter] *Lancet.* 1988; 26. 1(8587):704.

Fujimaki K. Fujii T. Aoyama H. Sato K. Inoue Y. Inoue M. Mitsuhashi S: Quinolone resistance in clinical isolates of *Serratia marcescens*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989; 33: 785-7.

Fujimaki K, Fujii T, Aoyama H, Sato K.I, Inoue Y, Inoue M, Mitsuhashi S: Quinolone resistance in clinical isolates of *serratia marcescens*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989; 33(5): 785-787.

Fung-Tomc J, Dougherty T.J, Deorio F.J, Simich-Jacobson V, Kessler R.E: Activity of cefepime against ceftazidime and cefotaxime resistant gram-negative bacteria and its relationship to β -lactamase levels. *Antimicrob. Agents Chemother* 1989; 33: 498-502.

Gaman, W, Cates, C, Snelling, C. F. T., Lank, B., Ronald, A. R. Emergence of gentamicin and carbenicillin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital environment. Antimicrob Agents Chemother 1976; 9: 474-480.

García I, Fainstein V, Leblanc B, Bodey G.P: In vitro activities of new B-lactam antibiotics against acinetobacter spp. Antimicrob. Agents Chemother. 1983; 24(2):297-299.

Godfrey AJ, Bryan LE, Rabin H. Beta-Lactam resistant *Pseudomonas aeruginosa* with modified penicillin-binding proteins emerging during cystic fibrosis treatment. Antimicrob Agents Chemother 1981; 19:705-711.

Goldstein, GW; Labigne-Roussel A, Gerbaud G, Carlier G, Collatz E, Courvalin P.: Trnasferable plasmid mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter*. Plasmid 1983; 10, 138-47.

Gomez J. Moldenhauer F. Ruiz J. Redondo C. Alonso JM. Canteras M. Sanchez-Gascon F: Evaluation of ceftazidime monotherapy in *Pseudomonas aeruginosa* bacteremias. Prospective study. Med Clin (Barc). 1989; 16. 93(7):249-51.

Gómez J, Amorós T, Ferreiro S, Gracia A, Alemán A, Campillo V: Patrones de cambio en el uso de antibióticos en un hospital general. Estudio comparativo (1978-1982). Tras una política de antibióticos. Med. Clin. (Barc).1984; 83: 232-235.

Gómez-Lus R. Rivera MJ. Bobey D. Martin C. Navarro M: Chromosomal origin of acetyltransferase AAC(6') specifying amikacin resistance in *Serratia marcescens*. Microbiologia. 1987; 3(3):185-94.

Gómez-Lus R: Enzimas modificantes de aminoglicósidos. Rev. Esp. Quimioterap. 1989; 11(2):107-114,

Gootz T.D, Jackson D.B, Sherris J.C: Development of resistance to Cephalosporins in clinical strains of citrobacter spp. Antimicrob. Agents Chemother. 1984; 25(5): 591-595.

Gorbach SL. Barza M. Giuliano M. Jacobus NV. Colonization resistance of the human intestinal microflora: testing the hypothesis in normal volunteers. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1988; 7(1):98-102.

Guilleland LB. Gilleland HE. Gibson JA. Champlin FR: Adaptive resistance to aminoglycoside antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Microbiol. 1989; 29(1):41-50.

Gutmann L, Chabbert Y.A: Different mechanisms of resistance to latamosef (moxalactam) in *serratia marcescens*. J. Antimicrob. Chemother. 1984; 13:15-22.

Gutmann L, Williansom R, Moreau N, Kitzis M.D, Collatz E, Acar J.F, Goldstein F.W: Cross-resistance to nalidixic acid,, trimethoprim and cloramphenicol associated with alterations in outer membrane proteins of klebsiella, enterobacter and serratia. J. Infect. Dis. 1985 151(3):501-507.

Gutmann L, Willianson R, Moreau N, Kitzis M.D, Collatz E, Acar J.F, Goldstein F.W: Crros-resistance to nalidixic acid, trimethoprim and chloramphenicol associated with alterations in outer membrane proteins of klebsiella, enterobacter and serratia. J. Infect. Dis. 1985; 151(3):501-507.

Haley RW, Hooton TM, Culver DH y cols: Nosocomial infections in U.S. hospitals, 1975-1976: Estimated frequency by selected characteristics of patients. *Am J Med.* 1981; 70:947-959.

Hashizume T, Yamaguchi A, Hirata T, Sawai T: Kinetic studies on the inhibition of proteus vulgaris B-lactamase by imipenem. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1984; 25(1), 149-151.

Hechler U. van den Weghe M. Martin HH. Overproduced beta-lactamase and the outer-membrane barrier as resistance factors in *Serratia marcescens* highly resistant to beta-lactamase-stable beta-lactam antibiotics. *J Gen Microbiol.* 1989; 135 (Pt 5) 1275-90.

Hedges RW, Jacob AE: Transposition of ampicillin resistance from RP4 to other replicons. *Mol Gen Genet* 1974; 132: 31-40.

Heffron FR, Kostriken R, Morita C, Parker R: Tn3-Encodes a sitespecific recombination system: Identification of essential sequences, genes, and the actual site of recombination. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol.* 1981; 45: 259-268.

Heikkilä E, Renkonen O.V, Sunila R, Urasmaa P, Huovinen P: The emergence and mechanisms of trimethoprim resistance in *Escherichia coli* isolated from outpatients in Finland. *J. Antimicrob. Chemother.* 1990; 25, 275-283.

Henry D, Skidmore A.G, Ngui-Yen J, Smith A, Smith J,A: In vitro activities of enoxacin, ticarcillin plus clavulanic acid, aztreonam, piperacillin and imipenem and comparison with commonly used antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985; 28(2): 259-264.

Hooper DC, Wolfson JS: Bacterial resistance to the quinolone antimicrobial agents. *Am J Med.* 1989; 29. 87(6C):17S-23S.

Hopkins J.M, Towner K,J: Enhanced resistance to cefotaxime and imipenem associated with outer membrane protein alterations in enterobacter aerogenes. *J. Antimicrob. Chemother.* 1990; 25: 49-55.

Huovinen P, Pulkkinen L, Helin H.L, Mäkilä M, Toivanen P: Emergence of trimethoprim resistance in relation to drug consumption in a Finnish hospital from 1971 through 1984. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1986; 29(1):73 -76.

Jarlier V, Nicolas M.H, Fournier G, Philippon A: Extended broad-spectrum B-lactamases conferring transferable resistance to newer B-lactam agents in enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev. Infect. Dis.* 1988; 10(4): 867-878.

Jhon JF Jr, Mckee KT Jr, Twitty JA, Schaffner W: Molecular epidemiology of sequential nursery epidemics caused by multi-resistant *Klebsiella pneumoniae* . *J Pediatr* 1983; 102: 825-830.

Jhonson JR, Roberts P, Stamm WE: P fimbriae and other virulence factors in *E.coli* urosepsis: association with patients' characteristics. *J Infect Dis.* 1987; 156:225-229.

Johanson WG Jr, Woods DE, Chaudhuri T: Asociation of respiratory tract colonization with adherence of gram-negative bacilli to epithelial cells. *J Infect dis.* 1979; 139: 667-673.

John Jr. J.F, Sharbaugh R.J, Bannister E.R: *Enterobacter cloacae*: Bacteremia, epidemiology and antibiotic resistance. *Rev. Infect. Dis.* 1982; 4(1), 13-28.

Joly-Guillou M.L, Bergogne-Berezin E: Enzymatic resistance to B-lactams and aminoglycosides in *acinetobacter calcoaceticus*. *JAC.* 1987; 3:773-777.

Joris B, de Meester F, Galleni M, Masson S, Dusart J, Frère J.M, Van Beeumen J, Bush K, Sykes R: Properties of a class C B-lactamase from *serratia marcescens*. *Biochem. J.* 1986; 239, 581-586.

Kelly MT, Brenner DJ, Farmer JJ: *Enterobacteriaceae*. En Lennette EH, Balows A, Hausler WJ y cols. *Manual de Microbiologia Clinica* 4a ed. Washington DC. 1985; 263-277.

Kelly MT, Brenner DJ, Farmer JJ. En Lennette EH, Balows A, Hausler WJ et al. *Manual of Clinical Microbiology* 4th ed Washington DC: American Society for Microbiology; 1985: 263-267.

Kettner M, Navarova J, Langsádl L: Aminoglycoside resistance patterns in clinical isolates of *enterobacteriaceae* from Czechoslovakia. *J. Antimicrob. Chemother.* 1987; 20: 383-387.

King A, Shannon K, Eykyn S, Phillips I: Reduced sensitivity to B-lactam antibiotics arising during ceftazidime treatment of *pseudomonas aeruginosa* infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 1983; 12: 360-370.

Kresken M, Wiedeman B: Development of resistance in the past decade in central Europe. *J. Antimicrob. Chemother.* 1986; 18 (Suppl. C):235-242.

Labia R, Morand A, Guionie M: B-lactamase stability of imipenem J. Antimicrob. Chemother. 1986; 18 (Suppl. E), 1-8.

Lafond M. Couture F. Vezina G. Levesque RC. Evolutionary perspectives on multiresistance beta-lactamase transposons. J Bacteriol. 1989; 171(12):6423-9.

Lamikanra A. Ndep RB: Trimethoprim resistance in urinary tract pathogens in two Nigerian hospitals. J Antimicrob Chemother. 1989; 23(1):151-4.

Legakis NJ. Tzouvelekis LS. Makris A. Kotsifaki H: Outer membrane alterations in multiresistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa* selected by ciprofloxacin. Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33(1):124-7.

Legrand P, Fournier G, Buré A, Jarlier V, Nicolas M.H, Decré D, Duval J, Philippon A: Detection of extended broad-spectrum beta-lactamases in enterobacteriaceae in four french hospitals. Eur. J. Clin. Microbiol. 1989; 8:527-529.

Rolinson G.N: B-lactamase induction and resistance to B-lactam antibiotics. JAC. 1989; 23:1-5.

Legrand P. Fournier G. Bure A. Jarlier V. Nicolas MH. Decre D. Duval J. Philippon A: Detection of extended broad-spectrum beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* in four French hospitals. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1989; 8(6):527-9.

Leshner GY, Froelich EJ, Gruett MD y cols: 1,8-naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. J Med Pharmacol Chem. 1962; 5: 1063.

Levy SB: Resistance to the tetracyclines. En Bryan LE. ed. Antimicrobial Drug Resistance. Orlando, FL. Academic Press; 1984: 192-234.

Lindberg F, Normark S: Contribution of chromosomal B-lactamases to B-lactam resistance in enterobacteria. Rev. Infect. Dis. 1986; 8 (Suppl. 3) 292-304.

Lindberg F, Lindquist S, Normark S: Genetic basis of induction and overproduction of chromosomal class I B-lactamase in nonfastidious gram-negative bacilli. Rev. Infect. Dis. 1988; 10(4):782-785.

Livermore D.M: Significado clínico de la inducción y de la desrepresión estable de las beta-lactamasas de los bacilos gram negativos. Rev. Esp. Microbiol. 1988; 3:661-619.

Livermore DM: Role of beta-lactamase and impermeability in the resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. Antibiot Chemother. 1989; 42:257-63.

Livermore DM. Akova M. Wu PJ. Yang YJ: Clavulanate and beta-lactamase induction. J Antimicrob Chemother. 1989; 24 Suppl BP 23-33.

Livermore D.M: Mechanisms of resistance to cephalosporin antibiotics. Drugs 1987; 34 (Suppl. 2): 64-68.

Lynch M.J, Drusano G.L, Mobley H.L.T: Emergence of resistance to imipenem in *pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. 1987; 31(12): 1892-1896.

Ma M.Y, Goldstein E.J.C, Friedman M.H, Anderson M.S, Mulligan M.E: Resistance of gram-negative bacilli as related to hospital use of antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1983; 24(3): 347-352.

Maki DG, Rhame FS, Mackel DC y cols.: Nationwide epidemic of septicemia caused by contaminated intravenous products: Epidemiologic and clinical features. *Am J Med.* 1976; 60: 471.

Malouin F, Bryan L.E: Modification of penicillin-binding proteins as mechanisms of B-lactam resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1986; 30(1):1-5.

Margaret BS. Drusano GL. Standiford HC: Emergence of resistance to carbapenem antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* . *J Antimicrob Chemother.* 1989; 24 Suppl AP 161-7.

Marre R. Aleksic S. Beta-lactamase types and beta-lactam resistance of *Escherichia coli* strains with chromosomally mediated ampicillin resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1990; 9(1):44-6.

Martinez J.L, Vicente M.F, Delgado-Iribarren A, Pérez Díaz J.C, Baquero F: Small plasmids are involved in amoxicillin-clavulanate resistance in *Escherichia coli*. *AAC.* 1982, 3:593-594.

Matsubara N, Yotsuji A, Kumano K, Inoue M, Mitsuhashi S: Purification and some properties of a cephalosporinase from *Proteus vulgaris*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1981; 19(1), 185-187.

Matthew M: Plasmid-mediated B-lactamases of gram-negative bacteria: properties and distribution. *J. Antimicrob. Chemother.* 1979; 5: 349-358.

Matthew, M: Plasmid-mediated beta-lactamases of Gram-negative bacteria: properties and distribution. *J Antimicrob Chemother* 1979; 21: 711-17.

Matthew M, Harris AM, Marshall M, Ross GW: The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of beta-lactamases. *J Gen Microbiol* 1975; 88:169-178.

Mayer K.H, Zinner S.H: Bacterial pathogens of increasing significance in hospital-acquired infections. *Rev. Infect. Dis.* 1985; 7 (Suppl. 3) 371-371.

Mayer K.H: The epidemiology of antibiotic resistance in hospitals. *J. Antimicrob. Chemother.* 1986;18 (Suppl. C): 223-233.

Mayer K.H, Fling M.E, Hopkins J.D, O'Brien T.F: Trimethoprim resistance in multiple genera of enterobacteriaceae at a U.S. hospital: Spread of the type II dihydrofolate reductase gene by a simple plasmid. *J. Infect. Dis.* 1985; 151(5):783-789.

Mayer KH, Opal SM, Medeiros, AA: Mechanism of antibiotic resistance. En Mandell GL, Douglas RG Benett JE: *Infectious Diseases*. 3a ed. Churchill Livingstone. New York 1990.

Mayer K.H: Review of epidemic aminoglycoside resistance worldwide. *Am. J. Med.* 1986; 80 (Suppl. 6B), 56-64.

Mayer KH, Hopkins JD, Gillece ES, Chao L, O'Brien TF: Molecular evolution, species distribution and clinical consequences of an endemic aminoglycoside resistance plasmid. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 29: 628-633.

McGowan Jr. J.E: Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. Rev. Infect. Dis. 1983; 5(6): 1033-1048.

Medeiros A.A: B-lactamases. Brit Med Bull. 1984; 40(1): 18-27.

Medeiros AA, O'Brien TF: Ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* type B possessing a TEM-type beta-lactamase but little permeability barrier to ampicillin. Lancet. 1975; 1:716.

Medeiros AA, Hedges RW, Jacoby GA: Spread of a *Pseudomonas*-specific beta-lactamase to plasmids of enterobacteria. J Bacteriol 1982; 149: 700-7

Michea-Hamzehpour M. Pechere JC. How predictable is development of resistance after beta-lactam therapy in *Enterobacter cloacae* infection? . J Antimicrob Chemother. 1989; 24(3):387-95.

Mills J, Drew E. *Serratia marcescens* endocarditis; A regional illness asociated with intravenous drug abuse. Ann Intern Med. 1976; 84: 29.

Minami S, Yotsuji A, Inoue M, Mitsunashi S: Induction of B-lactamase by various B-lactam antibiotics in enterobacter cloacae. Antimicrob. Agents Chemother. 1980; 18(3): 382-385.

Mitsuyama J, Hiruma R, Yamaguchi A, Sawai T: Identification of porins in outer membrane of proteus, morganella and providencia spp. and their role in outer membrane permeation of B-lactams. Antimicrob. Agents Chemother. 1987; 31(3): 379-384.

Moaz A. Shannon K. Phillips I: Mechanisms of gentamicin resistance in gram-negative bacilli in Riyadh, Kingdom of Saudi Arabia. J Antimicrob Chemother. 1989; 24(5):689-98.

Moellering RC Jr, Wennersten C, Kurz LJ Poitras JW: Resistance to gentamicin, tobramycin and amikacin among clinical isolates of bacteria. Am J Med 1977; 62: 873-881.

Moellering RC Jr: In vitro antibacterial activity of the aminoglycoside antibiotics. Rev Infect Dis 1983; 5: S212-S232.

Moller JK.:Antimicrobial usage and microbial resistance in a university hospital during a seven-year period. J Antimicrob Chemother. 1989; 24(6). P 983-92.

Montefiore D. Rotimi VO. Adeyemi-Doro FA: The problem of bacterial resistance to antibiotics among strains isolated from hospital patients in Lagos and Ibadan, Nigeria. J Antimicrob Chemother. 1989; 23(4):641-51.

Moosdeen F. Cheong YM.Enzymes of beta-lactam resistant salmonella strains [letter] . J Antimicrob Chemother. 1989; 23(5):797-8.

Munshi MH, Sack DA, Haider K. Plasmid mediated resistance to nalidixic acid in Shigella dysenteriae type I. Lancet. 1987; 2:419-421.

Murillo J, Guzmán M, Isturiz R, Otero C: Evaluation of the in vitro susceptibility of gramnegative bacilli to cefotaxime, over a period of 3 years. Drugs 1988; 35 (Suppl. 2): 12-13.

Murray BE: Problems and mechanisms of antimicrobial resistance. *Infect Dis Clin North Am.* 1989; 3(3):423-39.

Murray B.E: Resistance of shigella, salmonella and other selected enteric pathogens to antimicrobial agents. *Rev. Infect. Dis.* 1986; 8 (Suppl. 2):172-181.

Murray B.E, Alvarado T, Kim K.H, Vorachit M, Jayanetra P, Levine M.M, Prenzel I, Fling M, Elwell L, McCracken G.H, Madrigal G, Odio C, Trabulsi L.R: Increasing resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole among isolates of escherichia coli in developing countries. *J. Infect. Dis.* 1985; 152(6): 1107-113.

Nakashio S, Nakamura M: In vitro activity of cefotaxime against clinically significant pathogens. *Drugs* 1988; 35 (Suppl. 2): 14-21.

Neu H.C, Winsshell E.B: Relation of B-lactamase activity and cellular location to resistance of enterobacter to penicillins and cephalosporins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1972; 1(2): 107-111.

Neu H.C: The emergence of bacterial resistance and its influence on empiric therapy. *Rev. Infect. Dis.* 1983; 5 (Suppl.) 9-20.

Neu H.C: Bacterial resistance to fluoroquinolones. *Rev. Infect. Dis.* 1988;10 (Suppl. 1): 57-63.

Nikaido H: Bacterial resistance to antibiotics as a function of outer membrane permeability. *J. Antimicrob. Chemother.* 1988; 22, (Suppl. A): 17-22.

Nikaido H: Outer membrane barrier as a mechanisms of antimicrobial resitance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989; 33(11): 1831-1836.

O'Brien T.F and the International Survey of Antibiotic Resistance Group. Resistance to antibiotics at medical centres in different parts of the world. *J. Antimicrob. Chemother.* 1986; 18 (Supl. C) 243-253.

O'Brien TF, Acar JF, Medeiros AA, Norton RA, Goldstein F, Kent RL: International comparison of prevalence of resistance to antibiotics . *JAMA* 1978; 239: 1518-1523.

Oefner C, Dárcy A, Daly J.J, Gubernator K, Charnas R.L, Heinze J, Hubschwerlen C, Winkler F,M: Refined crystal structure of B-lactamase from citrobacter freundii indicates a mechanism for B-lactam hydrolysis. *Nature.* 1990; 343(18):284-288.

Oefner C. D'Arcy A. Daly JJ. Gubernator K. Charnas RL. Heinze I. Hubschwerlen C. Winkler FK: Refined crystal structure of beta-lactamase from *Citrobacter freundii* indicates a mechanism for beta-lactam hydrolysis. *Nature.* 1990; 18 343(6255):284-8.

Okonogi K, Kuno M, Higashide E: Induction of B-lactamase in *proteus vulgaris*. *J. Gen. Microbiol.* 1986; 132: 143-150.

Olson B, Weinstein RA, Nathan C, Chamberlin W, Kabins SA: Occult aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginosa*:epidemiology and implications for therapy and control. *J Infect Dis* 1985; 152: 769-74.

Pavia A.T, Shipman L.D, Wells J.G, Puhf N.D, Smith J.D, MacKinley T.W, Tauxe R.V: Epidemiology evidence that prior antimicrobial exposure decreases resistance to infection by antimicrobial-sensitive salmonella. J. Infect. Dis. 1990; 161:255-260.

Pavia AT. Shipman LD. Wells JG. Puhf ND. Smith JD. McKinley TW. Tauxe RV: Epidemiologic evidence that prior antimicrobial exposure decreases resistance to infection by antimicrobial-sensitive *Salmonella*. J Infect Dis. 1990; 161(2):255-60.

Payne DJ. Marriott MS. Amyes SG: Mutants of the TEM-1 beta-lactamase conferring resistance to ceftazidime. J Antimicrob Chemother. 1989; 24(2):103-10.

Pechère JC. Emergence of resistance in gram-negative bacilli during beta-lactam therapy: a challenge for the future. Eur J Cancer Clin Oncol. 1989; 25 Suppl 2 S17-23.

Pechère J.C: Emergence of resistance during B-lactam therapy of gram-negative infections. Bacterial mechanisms and medical responses. Drugs. 1988; 35 (Suppl. 2):22-28.

Petit A. Sirot DL. Chanal CM. Sirot JL. Labia R. Gerbaud G. Cluzel RA: Novel plasmid-mediated beta-lactamase in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* more resistant to ceftazidime than to other broad-spectrum cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother. 1988; 32(5):626-30.

Philippon A. Ben Redjeb S. Fournier G. Ben Hassen A. Epidemiology of extended spectrum beta-lactamases. Infection. 1989; 17(5):347-54.

Philippon A, Labia R, Jacoby G: Extended-spectrum B-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1989; 33(8):1131-1136.

Phillips I. Eykyn S. King A. Gransden WR. Rowe B. Frost JA. Gross RJ. Epidemic multiresistant *Escherichia coli* infection in West Lambeth Health District. *Lancet.* 1988; 7. 1(8593):1038-41.

Phillips I, King A, Gransden W.R, Eykyn S.J: The antibiotic sensitivity of bacteria isolated from the blood of patients in St Thomas' Hospital, 1969-1988. *J. Antimicrob. Chemother.* 1990; 25 (Suppl. C):59-80.

Phillips I: Resistance as a cause of treatment failure. *J. Antimicrob. Chemother.* 1986;18 (Suppl. C):255-260.

Phillips, I.:Beta-lactamase induction and derepression. *Lancet* 1986; 1: 801-802.

Phillips I, Shanon K: Aminoglycoside resistance. *Br Med Bull* 1984; 40: 28-35.

Phillips I, King A, Shannon K: Prevalence and mechanisms of aminoglycoside resistance. *Am. J. Med.* 1986; (Suppl. 6B): 48-55.

Phillips I. King A. Shannon K: Plasmid-mediated ceftazidime resistance [letter] . *J Antimicrob Chemother.* 1989; 24(1):85.

- Phillips, I. Breakpoints in in vitro antibiotic sensitivity testing. J Antimicrob Chemoth. 1988, 21:701-710.
- Phillips I, Shannon K: Class I B-lactamases. Induction and derepression. Drugs 1989; 37: 402-407.
- Piddock L.J.V, Wise R: Mechanisms of resistance to quinolones and clinical perspectives. JAC. 1989; 23:475-483.
- Pitt TL. Livermore DM. Pitcher D. Vatopoulos AC. Legakis NJ: Multiresistant serotype O 12 *Pseudomonas aeruginosa*: evidence for a common strain in Europe. Epidemiol Infect. 1989; 103(3):56-57.
- Prieto J, Gómez-Lus M.L: Importancia epidemiológica y control de las resistencias. Rev. Esp. Quimioterap. 1989; II (Supl. 3) 21-24.
- Qadri SM. Rizvi WH. Rahman SA. Al-Dayel F. Flournoy DJ: Saudi Arabian-American differences in antimicrobial resistance of *Escherichia*, *Klebsiella*, and *Pseudomonas*. J Natl Med Assoc. 1989; 81(10):1061-4.
- Quinn JP. Miyashiro D. Sahm D. Flamm R. Bush K: Novel plasmid-mediated beta-lactamase (TEM-10) conferring selective resistance to ceftazidime and aztreonam in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33(9). P 1451-6.
- Raymond A, Smego, Jr, M.D: Endemic nosocomial *acinetobacter calcoaceticus* bacteremia. Clinical significance, treatment and prognosis. Arch. Intern. Med. 1985; 145, 2174-2179.

Rennie R.P, Duncan I.B.R: Emergence of gentamicin-resistant klebsiella in a general hospital. Antimicrob. Agents Chemother. 1977; 11(2):179-184.

Reynolds Rc, Cluff LE: Infection in man with Mimeae. Ann Intern Med. 1963; 58: 759-67

Richmond M,H: An enzyme from bacteria able to destroy penicillin Rev. Infect. Dis. 1988; 10(4):677-678.

Richmond MH: Wild-type variants of exopenicillinase from *Staphylococcus aureus*. Biochem J 1965; 94: 584-593.

Rodríguez-Avial C, Cabronero M.C, Martín G, Gómez-Lus M.L, Prieto J.J, Picazo J.J: Inducción y selección de mutantes resistentes a ceftazidima en *Pseudomonas aeruginosa*. Rev. Esp. Quimioterap. 1990; 3(2):171-175.

Rolinson GN. Beta-lactamase induction and resistance to beta-lactam antibiotics. J Antimicrob Chemother. 1989; 23(1):1-2.

Rolston K.V.I, Bodey G.P: In vitro susceptibility of acinetobacter species to various antimicrobial agents. Antimicrob. Agents Chemother. 1986; 30(5): 769-770.

Roy C, Segura C, Reig R y cols. Activity of carumonam and aztreonam against *Klebsiella* species. Eur J Clin Microbiol 1985; 4: 519-521.

Roy C. Segura C. Torrellas A. Reig R. Teruel D. Hermida M: Activity of amoxycillin/clavulanate against beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. J Antimicrob Chemother. 1989; 24 Suppl BP 41-7.

Ryan CA. Hargrett-Bean NT. Blake PA: *Salmonella typhi* infections in the United States, 1975-1984: increasing role of foreign travel. Rev Infect Dis. 1989; 11(1):1-8.

Salauze B. Petit JC: Paradoxical resistance to ceftazidime and aztreonam in *Proteus mirabilis* [letter]. J Antimicrob Chemother. 1989; 23(3):454-5.

Sanders CC.: Beta-Lactamase stability and in vitro activity of oral cephalosporins against strains possessing well-characterized mechanisms of resistance. Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33(8):1313-7.

Sanders, C. C. Novel resistance selected by the new expanded-spectrum cephalosporins. J Infect Dis 1983; 149: 585-589.

Sanders C.C: Novel resistance selected by the new expanded-spectrum cephalosporins: A concern. J. Infect. Dis. 1983; 147(3), 585-589.

Sanders C.C: Emergence of resistance to B-lactams aminoglycosides and quinolones during combination therapy for infection due to *Serratia marcescens*. J. Infect. Dis. 1986; 153(3):617-619.

Sanders C.C, Sanders Jr. W.E: Clinical importance of inducible beta-lactamases in gram-negative bacteria. Eur. J. Clin. Microbiol. 1987; 6(4):435-437.

Sanders C.C, Sanders Jr. W.E: Microbial resistance to newer generation B-Lactam antibiotics: Clinical and Laboratory Implications. *J. Infect. Dis.* 1985; 151(3), 399-406.

Sanders C.C, Sanders W.E, Goering R.V, Werner V: Selection of multiple antibiotic resistance by quinolones B-lactams and aminoglycosides with special reference to cross resistance between unrelated drug classes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1984; 26(6), 797-801.

Santos JI. De la Maza L. Tanaka J. Antimicrobial susceptibility of selected bacterial enteropathogens in Latin America and worldwide. *Scand J Gastroenterol.* 1989 Suppl.3: 5-20.

Sawai T, Hiruma R, Kawana N, Kaneko M, Taniyasu F, Inami A: Outer membrane permeation of B-lactam antibiotics in *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* and *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1982; 22(4): 585-592.

Schaberg D.R, Highsmith A.K, Wachsmuth I.K: Resistance plasmid transfer by *Serratia marcescens* in urine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1977; 11(3):449-450.

Schaberg DR, Weinstein RA, Stamm WE. Epidemic of nosocomial urinary tract infection caused by multiple resistant gram-negative bacilli: Epidemiology and control. *J Infect Dis.* 1976; 133:363-366.

Shalit I, Dan M, Gutman R, Gorea A, Berger S.A: Cross resistance to ciprofloxacin and other antimicrobial agents among clinical isolates of *Acinetobacter calcoaceticus* biovar anitratus. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990; 34(3):494-495.

Shimizu K, Kumada T, Hsieh W.C, Chung H.Y, Chong Y, Hare R.S, Miller G.H, Sabatelli F.J, Howard J: Comparison of aminoglycoside resistance patterns in Japan, Formosa and Korea, Chile and the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985; 28(2):282-288.

Simmons H.E, Stolley P.D: This is medical progress? Trends and consequences of antibiotic use in the United States *JAMA.* 1974; 277(9): 1023-1028.

Simon H.H: On the restriction of antibiotic usage. *Rev. Infect. Dis.* 1987; 9(4):851-852.

Sirot J, Labia r, Thabaut, A: *Klebsiella pneumoniae* more resistant to ceftazidime than to other third-generation cephalosporins (abstract). *J Antimicrob Chemother.* 1987; 20: 611-612.

Sirot J, Chanal C, Petit A, Sirot D, Labia R, Gerbaud D: *Klebsiella pneumoniae* and other enterobacteriaceae producing novel plasmid-mediated B-lactamases markedly active against third-generation cephalosporins: Epidemiologic studies. *Rev. Infect. Dis.* 1988; 10(4):850-859.

Sirot D. Chanal C. Labia R. Meyran M. Sirot J. Cluzel R.: Comparative study of five plasmid-mediated ceftazidimases isolated in *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 1989; 24(4):509-521.

Solh NE, Allignet J, Bismuth R y cols: Conjugative transfer of staphylococcal antibiotic resistance markers in the absence of detectable plasmids DNA. *Antimicrob Agents Chemother.* 1986; 30:161-169.

Soriano F. Santamaria M. Ponte C. Castilla C. Fernandez-Roblas R: In vivo significance of the inoculum effect of antibiotics on *Escherichia coli* Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1988; 7(3):410-412.

Stiver H.G, Bartlett K.H, Chow A.W: Comparison of susceptibility of gentamicin-resistant and susceptible *Acinetobacter anitratus* to 15 alternatives antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother. 1986, 30(4), 624-625.

Stratton CW. Tausk F: Intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. Antibiot Chemother. 1989; 42 275-286.

Stratton C.V: Activity of B-lactamases against B-lactams. J. Antimicrob. Chemother. 1988; 22 (Suppl. A): 23-25.

Tajima M, Masuyoshi S, Inoue M, Takenouchi Y, Sugawara S, Mitsuhashi S: Purification and properties of B-lactamases from *serratia marcescens*. J. Gen. Microbiol. 1981; 126: 179-184.

Teng NNH, Kaplan HS, Herbert JM y cols. Protection against gram-negative bacteriemia and endotoxemia with human monoclonal IGM antibodies. Proc Natl Acad Sci USA. 1985; 82 1790-1794.

Then R.L, Angehrn P: Multiply resistant mutants of *enterobacter cloacae* selected by B-lactam antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother. 1986; 30(5):684-688.

Then R.L: Ability of newer beta-lactam antibiotics to induce beta-lactamase production in *enterobacter cloacae*. Eur. J. Clin. Microbiol. 1987; 6(4):451-455.

Then RL. Pechere JC. Permeability and penicillin-binding protein alterations in *Salmonella muenchen*: stepwise resistance acquired during beta-lactam therapy. Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33(7):1113-1115.

Then R.L, Angehrn P: Trapping of nonhydrolyzable cephalosporins by cephalosporinases in enterobacter cloacae and pseudomonas aeruginosa as a possible resistance mechanism. Antimicrob. Agents Chemother. 1982; 21(5):711-717.

Thompkins Ls, Troup N, Labigne-Roussel A y cols.: Cloned, random chromosomal sequences as probes to identify *Salmonella* especies. J Infect Dis. 1986; 154: 156-162.

Thomson RB Jr. File TM Jr. Burgoon RA. Repeat antimicrobial susceptibility testing of identical isolates. J Clin Microbiol. 1989; 27(5):1108-1111.

Thurb RB Jr. File TM Jr. Burgoon RA. Repeat antimicrobial susceptibility testing of identical isolates. J Clin Microbiol. 1989; 27(5):1108-1111.

Toala P, Lee Y, Wilcox C, Finland M: Susceptibility of *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae* to 19 antimicrobial agents in vitro. Am. J Med Sci. 1970; 260:41-54.

Tomasz A: the mechanism of the irreversible antimicrobial effects of penicillins: how the betalactam antibiotics kill and lyse bacteria. Ann Rev Microbiol. 1979; 33: 113-137

Towner K.J, Young H.K, Thomson C.J, Amyes S.G.B: Detection in the UK of trimethoprim resistant *Escherichia coli* encoding the type V dihydrofolate reductase. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 1990; 9:149-150.

Traub W.H, Kleber I, Pühler A, Burkardt H.C: Characterization of a nosocomially significant, multiple drug-resistant strain of *Serratia marcescens*. *Chemotherapy.* 1976; 22:297-312.

Trias J. Dufresne J. Levesque RC. Nikaido H. Decreased outer membrane permeability in imipenem-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989; 33(8):1202-1206.

Tullus K. Berglund B. Fryklund B. Kuhn I. Burman LG.: Epidemiology of fecal strains of the family *Enterobacteriaceae* in 22 neonatal wards and influence of antibiotic policy . *J Clin Microbiol.* 1988; 26(6):1166-1170.

Turck M: Clinical application of the newer B-lactam antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 1988; 22 (Suppl. A): 45-62.

Ubukata, K., Yamashita, A., Gotoh, A. y cols. Purification and characterization of aminoglycoside-modifying enzymes from *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 25: 754-759.

Urbina R. Prado V. Canelo E: Trimethoprim resistance in enterobacteria isolated in Chile. *J Antimicrob Chemother.* 1989; 23(1):143-149.

Van Landuyt H.W, Boelaert J, Glibert B, Gordts B, Verbruggen A.M: Surveillance of aminoglycoside resistance. Am. J. Med. 1986; 80 (Suppl. 6B):76-81.

Vila J. Almela M. Jimenez de Anta MT: Laboratory investigation of hospital outbreak caused by two different multiresistant *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus* strains. J Clin Microbiol. 1989; 27(5). P 1086-1089.

Vu H, Nikaido H: Role of B-lactam hydrolysis in the mechanism of resistance of a B-lactamase-constitutive enterobacter cloacae strain to expanded-spectrum B-lactams. Antimicrob. Agents Chemother. 1985; 27(3), 393-398.

Vuye A. Verschraegen G. Claeys G: Plasmid-mediated beta-lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* resistant to ceftazidime. Antimicrob Agents Chemother. 1989; 33(5):757-761.

Waghorn DJ. Kelly TW. Gibbins W. Epidemic multi-resistant *Escherichia coli* infection in south London. J Hosp Infect. 1988; 11(2):192-193.

Weinstein R.A, Nathan C, Gruensfelder R, Kabins S.A: Endemic aminoglycoside resistance in gram-negative bacilli: epidemiology and mechanisms. J. Infect. Dis. 1980; 141(3):338-345.

Wiedemann, B.: Genetic and biochemical basis of resistance of Enterobacteriaceae to Beta-lactam antibiotics. J Infect Dis 1985; 151: 399-406.

Wiedemann B, Kliebe C, Kresken M: The epidemiology of B-lactamases JAC. 1989;24 (Suppl B): 23-33.

Williams R.J, Yang Y.J, Livermore D.M: Mechanisms by which imipenem may overcome resistance in gram-negative bacille. J. Antimicrob. Chemother. 1986;18, (Suppl. E), 9-13.

Williams H. King A. Shannon K. Phillips I: Amoxycillin/clavulanate resistant *Escherichia coli* [letter] Lancet. 1988; 6. 1(8580):304-305.

Witchitz JL: Epidemiological aspects of aminoglycoside resistance in France. J Antimicrob Chemother 1981; 8 (suppl A): 71-82.

Wolfson JS: Quinolone antimicrobial agents: adverse effects and bacterial resistance Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1989; 8:1080-1092.

Wylie BA. Koornhof HJ.: Trimethoprim resistance in gram-negative bacteria isolated in South Africa. J Antimicrob Chemother. 1989; 24:973-982.

Yotsuji A, Minami S, Araki Y, Inoue M, Mitsuhashi S: Inducer activity of B-lactam antibiotics for the B-lactamases of *Proteus rettgeri* and *Proteus vulgaris*. J. Antibiot. 1982; 33: 1590-1593.

Young, HK, Amyes, SB: A new mechanism of plasmid trimethoprim resistance. Characterization of an inducible dihydrofolate reductase. J Biol Chem. 1986; 261: 2503-2505.

Young L.S, Hindler J: Aminoglycoside Resistance: A worlwide perspective. Am. J. Med. 1986; 80 (Suppl. 6B):15-21.